

فيروسات النبات

د. عصمت خالد علام

د. السيد أحمد سلامة د. رشدى عبد الباقي عمر



المكتبة الأكاديمية

فيروسات النبات

فيروسات النبات

د. عصمت خالد علام

استاذ الفيروسولوجى بكلية الزراعة - جامعة عين شمس (متفرغ)
وكيل كلية الزراعة - جامعة عين شمس للدراسات العليا والبحوث
ورئيس قسم الميكروبيولوجيا الزراعية (سابقاً)
عضو اللجنة الدولية لتقسيم الفيروسات
حائز على وسام الجمهورية
عضو اللجان القومية المتخصصة (التعليم الجامعى)

د. رشدى عبد الباقي عمر

أستاذ أمراض النبات الفيروسية
بكلية الزراعة جامعة طنطا (متفرغ) بكفر الشيخ
رئيس قسم النبات الزراعى سابقاً
وكيل كلية الزراعة للدراسات العليا والبحوث سابقاً
وعميد كلية الزراعة الأسبق

د. السيد أحمد سلامة

أستاذ أمراض النبات الفيروسية
بكلية الزراعة جامعة القاهرة (متفرغ)
أستاذ الأمراض الفيروسية السابق بجامعة
بغداد بالعراق وجامعة الملك فيصل
بالمملكة العربية السعودية



الناشر

المكتبة الأكاديمية

٢٠٠٠

حقوق النشر

الطبعة الأولى : حقوق الطبع والنشر © ٢٠٠٠ جميع الحقوق محفوظة للناسر :

المكتبة الاكاديمية

١٢١ شارع التحرير - الدقى - القاهرة

تليفون : ٣٤٨٥٢٨٢ / ٣٤٩١٨٩٠

فاكس : ٣٤٩١٨٩٠ - ٢٠٢

لا يجوز استنساخ أى جزء من هذا الكتاب بأى طريقة كانت

إلا بعد الحصول على تصريح كتابى من الناسر .

سَمِئَاتُ الْخَمْرِ الْخَمِيرِ

﴿سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا أنك أنت العليم الحكيم﴾

تقديم

يواجه العالم عامة والأقطار النامية فيه خاصة مشكلة من أعقد المشاكل وأخطرها . تلك هى مشكلة الجوع ونقص المواد الغذائية التى تهدد ملايين البشر بالفناء .

إن العالم - طبقاً لتقدير الهيئات الدولية - يحتاج بالضرورة إلى مضاعفة إنتاجه من المحاصيل الزراعية مع بداية القرن الحادى والعشرين .

أن الدول المتقدمة تستطيع بإمكاناتها ومواردها وتوافر الخبرة والمال لديها وانتشار الوعى بين شعوبها أن تواجه المشكلة وأن تتغلب عليها، غير أن حل هذه المشكلة يبدو من الأمور التى تحتاج إلى دراسة واعية مستنيرة وتخطيط سديد محكم من جانب الدول النامية التى تنقصها الخبرة وتفتقر إلى المال ويقل فيها الوعى .

على الرغم من أن الموضوع الذى يتناوله هذا الكتاب بالدراسة له أهميته وحيويته وخطورته باعتبار أن الإنتاج الزراعى والنباتات المختلفة وما يؤثر عليها من أمراض وآفات وخاصة الفيروسات النباتية ذو أهمية كبرى، ومن العوامل التى قد تحد من الإنتاج الزراعى فى حالة وبائية بعض الفيروسات .

والمكتبة العربية ستظل فى حاجة إلى مراجع علمية، تعالج مشكلات الفيروسات النباتية فى تلك البلاد ووسائل الحد من الفقد فيها لسد حاجة شعوبها من الغذاء .

ولقد كان الشعور السائد بالحاجة الملحة إلى مثل هذه المراجع هو الدافع الأساسى للمؤلفين لإصدار هذا الكتاب . ولما للمؤلفين من رصيد فى هذا المضمار، فقد قاموا بالتدريس والقاء المحاضرات والبحوث فى الجامعات العربية فى مصر والعراق والمملكة العربية السعودية لعدة سنين بالإضافة إلى التجديد وطرق المستحدث من موضوعات، وكانت ثمره جهدهم أن أخرج هذا الكتاب بالصورة التى يراها القارئ الآن .

وقد قسم الكتاب إلى عدة فصول، تناول كل منها جانباً من الموضوع، وقد زود الكتاب بعدد كبير من الأشكال والجداول والرسوم وذيل بقائمة لبعض المصطلحات المهمة، بالإضافة إلى قائمة ببعض المراجع العربية والأجنبية التى ينصح بالرجوع إليها للاستزادة .

ونحن نرجو أن نكون قد وفقنا فى إخراج هذا المؤلف ليسد نقصاً فى المكتبة العلمية العربية . ونأسف لآى خطأ أو قصور قد يلحظه القارئ، ونرحب فى الوقت نفسه بأى توصية وبكل نقد بناء.

ويأمل المؤلفين أن يكونوا قد وفقوا إلى غايتهم؛ حتى يكون لهذا الكتاب فائدته المنشودة للدارسين والمهتمين بعلم فيروسات النباتات .

ويشكر المؤلفون كل من ساهم أو ساعد فى إنجاز هذا المرجع، ويخصون بالشكر المسئولين بالمكتبة الأكاديمية بالدقى .

والله نسال أن يوفقنا إلى الخير والسداد ويهيئ لنا من أمرنا رشداً.

المؤلفون

أ.د. عصمت خالد علام

أ.د. السيد أحمد سلامه

أ.د. رشدى عبد الباقي عمر

القاهرة / ٢٠٠٠

محتويات الكتاب

الموضوع	الصفحة
الباب الأول :	
المقدمة	١٣
الباب الثاني :	
✓ التركيب البنائي والكيميائي لفيروسات النبات	٢٣
الفصل الأول : التركيب البنائي	٢٥
الفصل الثاني : التركيب الكيميائي	٣٧
الفصل الثالث : الجينوم الفيروسي	٤٥
الباب الثالث :	
سلالات فيروسات النبات	٦٩
الباب الرابع :	
تقسيم فيروسات النبات	٩٥
الباب الخامس :	
تنقية فيروسات النبات وخواصها الطبيعية والكيميائية	١٣٣
الفصل الأول : تنقية فيروسات النبات	١٣٥
الفصل الثاني : الخواص الطبيعية والكيميائية لفيروسات النبات	١٤٥
الباب السادس :	
علاقة الفيروس بالنبات	١٥٥

١٥٧ الفصل الأول: دخول الفيروس وتضاعفه وانتشاره بداخل العائل

١٨١ الفصل الثاني: مظاهر الإصابة بالفيروس

الباب السابع:

إنتاج الامصال المضادة والتشخيص السيرولوجي لفيروسات

٢٢٩ النبات

الباب الثامن:

٢٦٣ طرق انتقال فيروسات النبات

الباب التاسع:

٣٤٥ وبائية فيروسات النبات

الباب العاشر:

٣٧٥ مقاومة فيروسات النبات

الباب الحادى عشر:

٤١٥ إنتاج نباتات خالية من الفيروس باستخدام زراعة الانسجة

الباب الثانى عشر:

٤٦٣ المصطلحات

الباب الأول

مقدمة

INTRODUCTION

مقدمة

INTRODUCTION

نبذة تاريخية :

وجدت الفيروسات كمسببات للأمراض الفيروسية على النباتات منذ زمن طويل، فلوحظت ظاهرة تبقع ألوان الأزهار وانكسار الألوان Colour Break من نحو أربعمائة سنة مضت، حيث كانت تسترعى النظر لجمال الأزهار التي تحدث فيها. وجاء وصف انكسار اللون في زهرة التوليب عام ١٥٧٥ في كتاب وضعه كارولس Carolus clusius منذ ٣٠٠ سنة، كما رسمها غيره من الفنانين الهولنديين، وفي عام ١٧٦٥ اشتد مرض التفاف وتجمد أوراق البطاطس بشكل وبائي، أثر على محصوله تأثيراً سيئاً، ولم يعرف عن طبيعته المرضية شيء، وساد الاعتقاد يومئذ أنه نتيجة لتدهور تدريجي في نبات البطاطس لتكرار زراعته عاماً بعد آخر في بلد واحد.

ولم يكن مسبب الأمراض الوبائية في الإنسان والحيوان معروفاً، بل كانت الأمراض تعزى إلى الأرواح الشريرة أو إلى غضب الله وانتقامه، أو أنها تتساقط من السماء مع الأمطار والضبباب الكثيف أو تذروها الرياح وتنشرها من مكان إلى آخر، وغير ذلك من معتقدات خاطئة وخرافات غريبة.

وكان اكتشاف الطفيليات كعامل يسبب الأمراض الوبائية أول معول هدم به العلم الحديث بعض هذه المعتقدات؛ إذ أفاد عمل باستير (L. Pasteur 1822-1895) وكوخ وعلماء آخرين في تسليط كثير من الضوء في منتصف القرن التاسع عشر على مسببات الأمراض المعدية؛ حيث اكتشفت واحد تلو الآخر من مسببات الأمراض المعدية المختلفة، وأصبح من السهل أن يكون لاي عدوى مسبب خاص من عالم الميكروبات.

وكان من غير الممكن فصل مسببات بعض الأمراض، والتي تسبب خسارة واضحة في عالم الإنسان والحيوان والنبات إلى أن قدمت أعمال العالم الروسي ديميتري أيفانوفسكى

١٨٦٤-١٩٢٠ Dimitri Iwanowski حلا لذلك وهو اكتشاف الفيروس.

وقبل عمل أيفانوفسكى تجمعت بعض المعلومات من حالات مرضية فى الإنسان والحيوان والنبات، ولكن لم يوضح ولم يميز مسببات هذه الحالات تمييزاً كاملاً. ففى هولندا عام ١٨٨٦ درس ماير A.Mayer مرضاً ظهر على أوراق الدخان على هيئة تبقع الأوراق باللون الاخضر القاتم مختلطاً باللون الاخضر المصفر، اطلق عليه اسم موزايك Mosaic، وأثبت وجود مسبب المرض والعدوى فى عصير أوراق النباتات المصابة، إلا أنه لم ينجح فى فصل المسبب. وفى عام ١٨٨٨م اكتشف سميث Smith ان مرض اصفرار الخوخ، هو كذلك مرض معدٍ يمكن نقله من نبات مصاب إلى آخر سليم بالحقن أو التطعيم. وفى عام ١٨٩٨م قام عالم النبات بيجرنك W.Beijerinck بإجراء تجارب على مرض موزيك الدخان وأثبت ان المسبب يمر من خلال المرشحات التى تحجز أدق المكونات التى جعلته يقول إن المسبب عبارة عن «محلول حيوى معدى Contagium vivum fluidum، أى إن المسبب صغير الحجم جداً، وأطلق على المسبب اسم فيروس Virus أى «سم»، وأطلق على الأمراض الوبائية التى لم تكتشف لها مسببات بمرضة اسم «أمراض فيروسية»، وفى عام ١٨٩٢ بدأ أيفانوفسكى عمله على مرض موزيك الدخان، الذى كان منتشرًا فى مزارع الدخان بهبلاد كرم بالاتحاد السوفيتى، والذى سبب خسائر فادحة لزراعة الدخان والطماطم فى هذه الفترة. وأتم عمله عام ١٩٠٢م ونشرت رسالته للدكتوراه عن مرض موزيك الدخان. أثبت فى هذا البحث أن عصير أوراق نباتات الدخان المصابة يحتوى على مسبب معدٍ صغير الحجم جدً، لدرجة أنه يمر خلال مرشحات البكتريا وأطلق عليه Filtrable agent. ومن هذا التاريخ توالى الاكتشافات لمسببات أمراض فيروسية كثيرة سواء فى النبات أو الحيوان.

وفى عام ١٩٠٩ اكتشف العالم الأمريكى T.R. Ricketts مسبباً لبعض الأمراض المعدية للإنسان والحيوان، وقد وجد أن هذا المسبب يحتل مكاناً بين البكتريا والفيروس، ولو أنه لا يوجد سبب يدل على أنه يمثل حلقة تطور بين المجموعتين، وأطلق عليه اسمه ريكتسيا. وفى عام ١٩١٥ اكتشف العالم الإنجليزى تورت Twort والعالم الفرنسى ديهريل D'herelle ١٩١٧م فيروس يصيب البكتريا وسمى بكتريوفاج (أكل البكتريا) Bacteriophage.

وكانت ولا تزال كلمة أمراض فيروسية تطلق على كل الأمراض، التي لم تكن مسبباتها معروفة ولكن بالتقدم العلمى والتكنولوجيا أمكن تشخيص مسببات بعض الأمراض، والتي وجد أنها ليست فيروسات، فقد ظهر أن مسبب بعض من هذه الأمراض عبارة عن ريكتسيا، ومنها أمراض اصفرار الجزر وتورد بنجر السكر وخلافه، ويصل عدد الأمراض التي تسببها الريكتسيا إلى عشرين مرضاً. كما عرفت الميكوبلازما كمسببات لبعض أمراض الإنسان والحيوان منذ زمن بعيد (منذ نهاية القرن التاسع عشر) إلا أن أهميتها كمسببات لأمراض نباتية لم تعرف إلا فى عام ١٩٦٧ ببدء عمل داو وآخرين Doi et al عندما تمكنوا من معرفة أن مرض اصفرار الأستر Aster yellows يتسبب عن ميكروب يشبه الميكوبلازما، وليس عن فيروس كما كان يعتقد من قبل. ومنذ ذلك الوقت أمكن حتى الآن التعرف على بعض الأمراض الأخرى، التي تسببها ميكروبات تشبه الميكوبلازما حتى وصل عددها إلى أكثر من مائتى مرض. وفى عام ١٩٦٧ اكتشف T.Diener مسبباً آخر لبعض الأمراض أصفر حجماً من الفيروس، أطلق عليه عام ١٩٧١ اسم فيروس Viroid، وهو عبارة عن حمض نوأى عاى RNA فقط ذو وزن جزيئى منخفض، ومن الأمراض التي يسببها مرض الدرنة المغزلية فى البطاطس Spindle tuber disease ومرض اكسوكورتس الموالح، تشقق القلف Citrus exocortis وغيرها، حيث بلغ عددها لآن ثلاث عشر مرضاً، ولا تزال مجهودات العلماء مستمرة فى التعرف على مسببات أخرى مرضية. وبذلك أصبحت مسببات الأمراض النباتية ليس فقط الفطر والطحالب والبكتريا، ولكن أضيف لها الريكتسيا والميكوبلازما والفيروس والفيرويد.

وتختلف هذه المسببات المرضية عن بعضها فى كثير من الخواص، فتختلف فى شكلها وحجمها وطريقة إصابتها ومدى تأثيرها على العائل.

الأهمية الاقتصادية :

أخذت الأمراض الفيروسية أهميتها التاريخية لما تسببه من أمراض وبائية فى بعض المحاصيل المهمة فى كثير من بلدان العالم، والتي ينتج عنها خسائر كبيرة فى المحصول مما يؤثر على الاقتصاد الزراعى لتلك البلدان. فمثلاً سببت أمراض البطاطس الفيروسية تدهوراً فى

محصول البطاطس في أوروبا عام ١٧٧٥؛ مما جعل كثير من الزراع يحجمون عن زراعته. وفي ساحل الذهب سبب مرض تشوه البراعم بأشجار الكاكاو موت عدة ملايين شجرة، عام ١٩٣٩ ومن عام ١٩٣٩ حتى عام ١٩٤٥ مات كل سنة حوالي خمسة ملايين شجرة، ومن عام ١٩٤٥-١٩٤٨ مات سنوياً حوالي ١٥ مليون شجرة. وأصاب فيروس التدهور السريع مزارع الموالح في كثير من مناطق زراعتها، وسبب موت ٧ ملايين شجرة في ولاية سان باولو بالبرازيل في مدة اثني عشر عاماً، وهي تمثل حوالي ٧٥٪ من أشجار الولاية.

وتستورد جمهورية مصر العربية سنوياً تقاوى بطاطس لزراعة العروة الصيفي بما قيمته ملايين الدولارات تزداد سنوياً، حتى وصلت إلى ١٤ مليون دولار عام ١٩٨٦، وذلك بسبب الأمراض الفيروسية، كما يقل محصول العروة النيلي إلى نصف محصول العروة الصيفي تقريباً بسبب انتشار الأمراض الفيروسية بالمزارع هذا، علاوة على ما يسببه الفيروس من أمراض تقلل من محصول الخضروات والطماطم بصفة خاصة ونباتات الفاكهة مثل الموالح والموز، ونباتات الزينة كالقرنفل والابصال ونباتات المحاصيل الحقلية كالقصب والذرة.

غالباً ما يكون من الصعب الحصول على معلومات دقيقة عن الخسائر المباشرة، التي يتعرض لها المحصول نتيجة للإصابة بالفيروسات وعن القيمة النقدية للعمليات التي يجب أن تجرى لمقاومة الأمراض المتسببة عنها، أو حتى لتقليل النقص إلى أدنى حد ممكن.

كما أن حجم الخسائر المباشرة في مختلف المحاصيل يختلف من سنة لأخرى، ومن منطقة لأخرى، ولذا لا يمكن أن يعتبر متوسط النقص الناجم عن مرض ما مقياساً حقيقياً في كل الأحوال. ومن هنا يمكن اتخاذ الثلاث اتجاهات التالية التي يمكن أن يحدث فيها نقص المحصول نتيجة الإصابة الفيروسية:

١ - إصابة المحاصيل المعمرة (أساساً الأشجار الخشبية) التي تؤدي إلى موت أو إضعاف النباتات مما يتسبب عنه آثار جسيمة؛ حيث إن زراعة هذه النباتات تتطلب وقتاً طويلاً كما أنها تشغل الحقل فترة زمنية طويلة. ومن أوضح الأمثلة على ذلك أمراض تدهور

الموالح فى امريكا ومرض تشوه براعم أشجار الكاكاو، الذى يصيب هذا المحصول فى غرب أفريقيا .

٢ - إصابة المحاصيل الحولية التى تزرع بالبذرة، ولها أمثلة كثيرة مثل عدد كبير من الأمراض التى تصيب محاصيل الخضر، والتى يتفاوت فيها النقص أو الخسائر المحصولية تفاوتاً كبيراً من سنة لآخرى، وكذلك الحال بالنسبة لمحاصيل الحقل؛ ففي الولايات المتحدة يبلغ متوسط الخسائر الناجمة فى محصول القمح عن الأمراض الفيروسية حوالى ٢٪ فى حين بلغ هذا النقص سنة ١٩٥٩ فى ولاية كنساس وحدها ٢٠٪ .

٣ - إصابة المحاصيل التى تتكاثر خضرياً وعلى سبيل المثال محصول البطاطس وكثير من نباتات الزينة . وفى هذا الحال تصاب كثير من النباتات بأمراض فيروسية شديدة .

وفى الوقت نفسه تكون المظاهر (الأمراض) ضعيفة . وغالباً ما تكون النباتات مصابة إصابة جهازية، ولكن نقص المحصول يكون غير كبير (حوالى ١٠٪) .

إن قيمة المعلومات حول نقص المحصول تتوقف على المحصول نفسه . وعلى سبيل المثال يعتبر متوسط النقص الناتج عن المرض فى :

أ - الأشجار المثمرة مؤشراً دقيقاً، إذا ما درس لعدد من السنين، حيث وجد أن وزن التفاح يقل على مدى واسع من السنين (سبع سنوات) بمعدل ثابت فى صنف (لورد لامبوريه) .

وفى عدد كبير من أصناف الكريز فإن الإصابة الفيروسية تؤدى إلى نقص فى المحصول، إلا أن هذا النقص لا يظهر عند إصابة صنف الكريز (مرثون - هارت) بفيروس تفصص الاوراق، حيث أن خصوبة النباتات (الإخصاب) زادت بشكل واضح فى هذه الحالة .

ب - وفى حالة المحاصيل الحولية التى تزرع بالبذرة يمكن أن يقيم النقص الناتج عن الإصابة الفيروسية بدقة، إن لم تتدخل عوامل أخرى مثل الإصابة بطفيليات أخرى أو كان يعانى النبات من عدم توازن الغذاء؛ حيث فى هذه الحالة فقط يمكن أن

ينسب النقص الناتج إلى الإصابة الفيروسية.

جـ - كما أن النقص في المحاصيل التكنولوجية مثل قصب السكر لا يمكن أن يقيم بدقة إلا بعد تقدير النقص في محصول السكر نفسه. كما يمكن تقدير النقص في المحصول إذا علم بالضبط نسبة الإصابة.

د - وفيما يتعلق بالمحاصيل التي تتكاثر خضرياً فإنه في أغلب الأحوال يتعذر تقدير الخسائر على وجه الدقة، حيث إنه في أغلب الأحوال يتعذر الحصول على العينات السليمة اللازمة للمقارنة، فعلى مدى سنوات عديدة كان فيروس البطاطس E يعتبر عديم التأثير على محصول البطاطس صنف كنج إدوارد إلا أنه عندما تمكن Kassanis من الحصول على نواة من هذا الصنف خالية من الإصابة الفيروسية زاد محصول هذه النواة بما يعادل ١٠٪ عن محصول أحسن وأجود التقاوى التجارية من هذا الصنف، وكانت الدرنات أكثر انتظاماً من حيث شكلها الخارجى.

وعموماً من المتعذر إيجاد طريقة قياسية لتقدير النقص في غلة هذا أو ذاك من المحاصيل عند إصابته بهذا أو بذاك من الفيروسات. ولذا فإنه لتقدير حجم النقص لا بد أن تحدّد طبيعة المكان وظروف فترة النمو الخضري، كما أن هذه التقديرات تتوقف إلى حد كبير على صنف النبات العائل وسلالة الفيروس وعلى عدد وكفاءة الناقلات وعلى وقت أو موعد ظهور الإصابة، وعلى حالة النباتات العامة، وعلى الظروف الجوية السائدة وكذا وجود أو عدم وجود طفيليات أخرى.

فإن إصابة العائل بفيروسين في وقت واحد يؤدي إلى ضرر من نوع خاص فمثلاً عند إصابة فول الصويا بسلالات مختلفة من فيروس موزيك الصويا، فإن نقص المحصول يتراوح ما بين ٨-٢٥٪، أما إذا أصيبت النباتات في الوقت نفسه بفيروس تبقع قرون الفاصوليا فإن النقص يرتفع إلى ٨٠٪.

كما أن الإصابة المبكرة للنباتات تؤدي إلى الزيادة في نقص المحصول.

كما أن تأثير موعد هجرة المن على نقص المحصول يظهر بوضوح في حالة إصابة زراعات

الجزر بفيرس التقرم المخطط الذى ينتشر عن طريق من *Carariella acgodu*.

فقد وجد أنه عند زيادة أعداد المن المهاجرة إلى حقول الجزر عشر مرات فإن المحصول ينقص بمقدار ١٥ طناً فى الهكتار الواحد. ومما يزيد من تعقيد هذا التقدير تعرض هذه الزراعات للجفاف فى هذه الفترة مما يؤدى لتهيئة الظروف لهجرة المن وتكاثره ومعاكسته لنمو النباتات، حيث قلت نسبة إنبات البذور.

وفى حالة الإصابة المتأخرة فإن معدلات نقص المحصول تقل، إذ وجد برودبينت وآخرون Broadbent et al أن نباتات البطاطس التى تصاب فى أواخر عمرها بفيرس التفاف الأوراق تنتج غالباً درنات خالية من الفيروس المذكور.

وفى بريطانيا قدر النقص فى محصول بنجر السكر فى سنوات ١٩٤٦-١٩٦٢، ووجد أن متوسط النقص الناتج من فيروسات اصفرار بنجر السكر يقدر حوالى ٨.٦٪، فى حين أن Hall قدر النقص فى سنة ١٩٥٧ فى محصول بنجر السكر من الفيروسات، فكان أكثر قليلاً من واحد مليون طن.

وعند تقدير النقص أو الخسارة فمن الواجب أو من الضرورى ألا يحسب نقص المحصول فى نبات واحد أو هكتار واحد فحسب، فإذا كان المحصول جمع عدة مرات على مدى الموسم وإذا كان سعر المحصول يتوقف على جودته فإنه من الضرورى الوقوف على موعد الإصابة. فقد لاحظ Broadbent أن جودة الطماطم المصابة بفيرس TMV تسوء بشدة إذا ما أصيبت الطماطم فى موعد متأخر.

وعلى أساس أسعار السوق، فقد تم حساب الخسائر اليومية فى المواعيد المختلفة للإصابة، وفيما يلى ما توصل إليه Broadbent (جدول ١ - ١).

الجدول (١ - ١)

النقص محسوباً بالوزن %	النقص محسوباً بالجودة %	موعد الإصابة
١٩	١٩	٣ مارس
٢٧	١٨	١٤ أبريل
٣٣	١٢	٣١ مايو

وفي ظروف السوق فإن تقدير العلاقة بين النقص في الوزنين والخسائر اليومية النقدية التي يتكبدها محصول معين تتعقد أكثر إذا ما ثار التساؤل حول مدى إمكانية تطبيق ذلك على مزارع مختلفة . وإذا كان النقص في المزارع المختلفة متقارباً . فإن ثمن المنتج يزيد، وهذا من ناحية أخرى يقلل الخسائر وإذا كانت بعض المزارع تتعرض للضرر أكثر من مزارع أخرى فإن الخسائر اليومية لتلك المزارع تزيد بصورة أكبر.

كما أنه تظهر تعقيدات أخرى حينما تتعرض لبعض أنواع النباتات التي تشكل أحد مكونات البيئة النباتية في مكان ما . وكان أوضح مثال على ذلك تلك التجارب التي أجراها كاتراك وجرنيش على حشيشة *Cocks feet* أو قدم الديك :

١ - في الأصبص في مكان مسقوف .

٢ - في مكان مفتوح .

٣ - مختلطة مع حشائش أخرى .

ففي القصارى أدت الإصابة الفيروسية إلى إنقاص محصولها بحوالى ٤٠٪ إلا أن النباتات المصابة، -كان وزن البراعم الفردية أكبر منه في السليمة، ولذلك كان النقص في الوزن الجاف غير معنوى . وعند الزراعة في القصارى شغلت النباتات المصابة والسليمة كل المسطح المتاح . بينما في المكان المفتوح (الحقل)، حيث يكون نمو الحشيشة أفقياً أسرع كثيراً منه في النباتات المصابة، ومن نتيجة ذلك كان الوزن الجاف في النباتات المصابة حوالى نصف النباتات السليمة . إلا أنه لوحظ أن النباتات المصابة تزهر مبكراً، وتعطى كمية أقل من البذور التي كانت حيويتها أقل .

وهذا لم يلاحظ حينما زرعت مختلطة مع حشائش أخرى، حيث يوجد تنافس بين النباتات، وحيث تدخلت عوامل أخرى كثيرة نشأت عن هذا الوضع . ولهذا قام المؤلفان بدراسة صغيرة للحشائش التجريبية، والتي توجد بذورها بالحشيشة المدروسة وكانت نسبة النباتات المصابة بالفيروس صفراً، ٥٠، ١٠٠٪ .

وعلى مدى عامين مات ٤٤٪ من النباتات المصابة، ٢١٪ من النباتات السليمة، ولو كانت النباتات المصابة والسليمة معاً على البيئة نفسها (الجازون) فإن نقص عدد النباتات

فيروسات النباتات

المصابة يساعد بنجاح على نمو النباتات السليمة، إذا تم حش العينة مرة أو مرتين في الموسم. أما إذا لم يتم ذلك فإن النباتات المصابة تزهر مبكرة معطية أفرعاً رأسية مما يؤدي إلى تظليل النباتات السليمة، التي ما تزال توجد في المرحلة الحضرية، إلا إذا تم حش هذه النموات الرأسية.

وهذا التنافس لم يوجد في مثال آخر حينما زرعت حشيشة الراى فى مساحة صغيرة، وأصيب نصف عددها بفيروس التقدم الأصفر فى الشعير؛ حيث تؤدي الإصابة بهذا الفيروس إلى إنقاص عدد البراعم والخلفات، كما تؤدي إلى سرعة توقف نمو النباتات. ومن نتيجة ذلك يقل النمو الجانبي للنباتات المصابة عن السليمة.

جدول (١-٢) : بعض الأمثلة عن الخسارة الطبيعية فى بعض

الحاصل؛ نتيجة الإصابة بالفيروسات (نقلاً

عن حديدي ١٩٩٨).

المكان	نسبة النقص فى الحصول	الفيروس	الحصول
(هاواي)	٧٥-١٠٠٪	الذبول المبقع TSWV	الطماطم
(أمريكا الجنوبية)	٥٠-٧٠٪	تورد القمه Bunchy Top	الموز
	٣٠-٤٠٪	موزيك Mosaic	التفاح
	٥٠٪	الزوائد فى البسلة Pea enation	البسلة
(أمريكا)	١٠٠٠ كيلو / الفدان	التقدم الأصفر فى الشعير BYDV	القمح
(أريزونا)	٨٠٪	تجمد الأوراق Leaf crumple	القطن
(أمريكا)	٥-٨٪	التفاف الأوراق Leaf roll	العنب
(هاواي)	٥٠-٩٠٪	الذبول المبقع فى الطماطم TSWV	الحس
(هونولولو)	٥٠-٨٥٪	التقدم الأصفر فى البنجر BYSV	
(كاليفورنيا)	٤٠-٥٠٪	زكونى - الذبول والموزيك ZYMV & WMV	القرعيات
(إسبانيا)	١٠ كيلو / للشجرة	الترهتيزا Tristeza	البرتقال
(أمريكا)	٢٠٠ كيلو / للشجرة	الموزيك Mosaic	الخوخ
(أمريكا)	١٨٪	الموزيك Mosaic	البطاطس
(ماليزيا -	١-١٠٠٪	تأنجرو Tungro	الأرز
(اندونيسيا)			
(أمريكا- إنجلترا)	٥-٢٢٪	الاصفرار Yellow	بنجر السكر

الباب الثانى

التركيب البنائى والكيمىائى

لفيروسات النبات

**STRUCTURAL AND CHEMICAL
COMPOSITION OF PLANT VIRUSES**

الفصل الأول

التركيب البنائي لفيروسات النبات

STRUCTURAL OF PLANT VIRUSES

من الضروري جداً توافر معلومات تفصيلية عن التركيب البنائي للفيروسات لعدد من الأغراض فعلى سبيل المثال لمعرفة كيف تحدث الإصابة، وكيف تتضاعف الفيروسات فى الخلية، وكيف تحيا خارج الخلية، وما علاقة الفيروسات المختلفة ببعضها؟ ودراسة التركيب البنائي لفيروس ما تبدأ بدراسة شكل الفيروس.

وأوضحت الدراسات الدراسات الكثيرة المتواصلة أن الجزيئات الفيروسية صغيرة جداً، ولا يمكن رؤيتها، وقد صمم مارتون (Marton, 1934) أول ميكروسكوب إلكترونى، وأخذت أول صورة لفيروس موزيك الدخان (TMV) عام ١٩٣٩. ووجد بواسطه الميكروسكوب الإلكتروني أن الجزيئات أو الفيرونات الفيروسية تنقسم من حيث الشكل إلى ثلاث مجاميع، وهى:

١ - مجموعة الفيروسات عصبية الشكل Rod shaped viruses.

٢ - مجموعة الفيروسات خيطية الشكل Filamentous viruses.

٣ - مجموعة الفيروسات كروية الشكل Spherical viruses.

المجموعة الأولى:

كروية الشكل Spherical shape، وهى جزيئات كروية صغيرة متلاصقة ومن أمثلتها فيروس موزيك الخيار (CMV)، وفيروس التقزم الشجيري فى الطماطم (TBSV)، وفيروس نيكروزيس الدخان (TNV).

المجموعة الثانية:

عصبية الشكل Rod-shape، وهى جزيئات مستقيمة عصبية مثل فيروس موزيك

الدخان (TMV)، وكذا جزيئات (PVX) فيروس X البطاطس.

المجموعة الثالثة:

خييطية الشكل Filament shape، وهى عبارة عن خيوط طويلة مرنة ملتوية، وقد تكون شبكة تختلف فى درجة نسجها حسب طول الفيروس ومرونته، ومن أمثلتها: فيروس Y البطاطس (PVY) وفيروس موزيك الخيار رقم ٢ (CMV₂) وفيروس موزيك الخس (LMV).

وهناك تقسيم آخر لأشكال الفيروسات بصفة عامة، وهو:

١ - فيروسات متماثلة Isometric viruses، وهى إما مستديرة Spherical أو عديدة الأوجه Polyhedral، وهذه تأخذ الشكل الهندسى Icosahedron، وهو شكل عدد أوجهه عشرون أو مضاعفات العشرين، له ثلاث أنواع من المحاور والتماثل الدائرى (ثلاثية وخماسية وثمانية).

٢ - فيروسات غير متماثلة Anisometric viruses وهى عصوية طولها عدة أضعاف عرضها، ومنها:

أ - فريونات عصوية مستديرة الطرفين Bacillus-Like bodies.

ب - فريونات مستقيمة صلبة Rigid rods.

ج - فريونات خييطية مرنة Flexible threads.

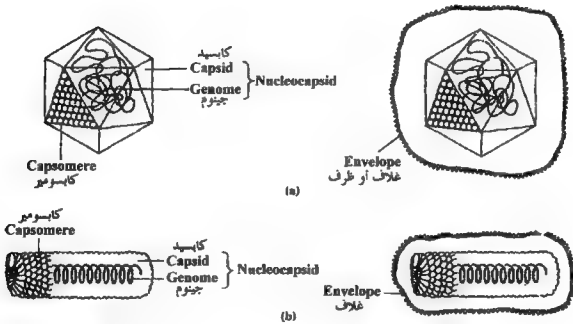
أما الفيروسات الكبيرة التى يحيطها غلاف فيمكن وصفها فى مجموعتين كالآتى:

١ - فريونات كروية Spherical، مثل: فيروس الذبول المنقط فى الطماطم (TSWV).

٢ - فريونات عصوية Bacilliform أو شبه الرصاصة Bullet shape، مثل: فيروس التقزم الأصفر فى البطاطس (PYDV) والنيكروزيس الأصفر فى الخس (LYNV)، وفيروس الجمومفرينا (المدنة)، وفيروس موزيك الذرة (MMV)، وفيروس موزيك وتخطيط القمح (WSMV).

فيروسات الذبابة

تقاس الجزيئات الفيروسية بالنانومتر (nm)، ويمكن تقدير هذه المقاييس بالدقة الكافية بواسطة الصور المأخوذة بالميكروسكوب الإلكتروني لتحضيرات نباتات مصابة. ومن المعروف أن مقاس جزيئات الفيروسات يختلف اختلافاً كبيراً، ويحتفظ كل فيروس بمقاييسه فمثلاً جزيئات فيروس نيكروزس الدخان (TNV)، قطرها ١٧ نانومتر، وجزيئات فيروس اللون البرونزي في الطماطم قطرها ٩٠ نانومتر، كذلك طول جزيئات فيروس موزيك الدخان (TMV) ٣٠٠ نانومتر، أما فيروس X البطاطس (PVX) فطول جزيئاته ٥٠٠ نانومتر، وفيروس اصفرار البنجر خيطي وطول الخيط فيه ١٢٥٠ نانومتر، بينما طول خيط فيروس تخطيط البسلة ٥٠٠٠ نانومتر.



شكل (٢ - ١): رسومات تبين الشكل العام لبعض الفيروسات

- أ - (a) فيروس (كروي) أيكوزا هيدرال دون غلاف (Macked)، وآخر محاط بغلاف وتظهر الكبسوميرات على وجه واحد من الكابسيد والحمض النووي فهو ملتف ومكثف.
- ب - (b) فيروس (خيطي) حلزوني السيمتريه في شكل عارٍ دون غلاف Naked أو بغلاف Enveloped والحمض حلزوني والكبسوميرات منسوجة بشكل حلزوني.

أظهرت الدراسات باستعمال الأشعة السينية (X) والميكروسكوب الإلكتروني أن الفيروسات تحتوى على حمض نوأ واحد، إما DNA أو RNA محاطاً بغلاف بروتينى Pro-tein shell or coat أطلق عليه اسم نيوكليوكاسيد هذا الغلاف البروتينى يتكون من وحدات بنائية يطلق عليها اسم كابسوميرات Capsomeres، وقد تحاط النيوكليوكاسيد فى بعض الفيروسات بغلاف خارجى يطلق عليه ظرف Envelope.

أوضحت التجارب السابقة أن الفيروسات تحتوى على ٥٠ - ٦٠٪ من تركيبها بروتين، والأكثر من ذلك هو إمكانية فصل الحمض النووى عن البروتين وإعادة تركيبهما معا. ولذلك أوضحت التجارب أن هناك طرقاً عديدة مختلفة يترتب بها البروتين حول حمض النوأ لحمايته، إلا أنه لوحظ وجود بعض التصميمات المحددة.

وقبل النظر فى التركيب البنائى لبعض الفيروسات، لابد وأن نتذكر الآتى:

أولاً: على الرغم من أن البروتينات فى تركيبها الثانوى تكون فى شكل حلزونى helical إلا أن التركيب الثلاثى لها غير سيمترى أى غير منتظم، وهذا يرجع بالطبع إلى طبيعة الروابط الأيدروجينية، والكبرى ثنائية الكبريت Disulphids bridges إلى جانب تداخل البرولين فى التركيب البنائى.

ثانياً: قد يظن البعض أن حمض النوأ ربما يغلف بواسطة جزئ كبير من البروتين، ولكن هذا لا يحدث إذ إن البروتينات تكون غير مرتبة Irregular فى شكلها، كما تظهر معظم جزيئات الفيروس منتظمة الشكل عند فحصها بالميكروسكوب الإلكتروني.

ثالثاً: إن الشفرة الوراثية الثلاثية Triplet ذات وزن جزيئى يصل إلى حوالى ١٠٠٠ وحدة وزن جزيئى، ولكنها مسئولة عن تكوين حمض أمينى واحد فقط يكون وزنه الجزيئى ١٠٠ وحدة؛ ولهذا فإن حمض النوأ يمكنه تمثيل ١/١٠ وزنه بروتين. وحيث إن الفيروسات تحتوى على ٥٠٪ بالوزن بروتين؛ فهذا يدل على وجود أكثر من بروتين مميز، وذو وزن جزيئى صغير.

رابعاً: يتضح أنه إذا ما استخدم جزئ البروتين بمفرده كتحت وحدة Subunit كروية أو مستديرة؛ فهذا يحتاج إلى استخدام قليل من المادة الوراثية. وبذلك فليس من الضرورى أن يتركب الغلاف البروتينى بنائياً من تحت وحدات متشابهة.

خامساً: إن الأوزان الجزيئية لتحت الوحدات المختلفة تكون صغيرة مقارنة بجزئ حمض

فيروسات الذبذبات

النواة التي تحيط به إلى جانب أن بناء الفيروس من تحت وحدات يجعله ثابتاً وراثياً؛ حيث يقلل صغر حجم تحت الوحدات البنائية فرصة حدوث طفرات غير مرغوبة؛ نتيجة لعدم دخول تلك تحت الوحدات غير المرغوب فيها والموجودة على الجين، الذي يمثلها في تركيب جزئ الفيروس أثناء التجميع.

سأدسأً: إن العدد الأكبر من الروابط يكون بين تحت الوحدات، وكما ذكر سابقاً أن تحت الوحدات تكون غير منتظمة التركيب، نجد أن تحت الوحدات في أقل قوة متحررة فيما بينها، وهذا يجعل التركيب البنائي ثابتاً، وبذلك يمكن الحصول على المعلق الفيروسي في المعمل ولمدة طويلة.

ويخضع نظام وضع حمض النواة وما يحيط به من بروتين إلى نظام معين أو سيمتريّة معينه نتيجة لتراص تحت الوحدات Subunits طبقاً لأسس هندسية بسيطة نسبياً مبنية على اعتبارات فيزيائية.

وهناك نوعان من نظام التجمع للوحدات البنائية، يؤديان إلى نوعين من السيمتريّة لبناء النيوكليوكايسيدات هما:

١ - السيمتريّة الحلزونية (H) Helical symmetry وهي تجمعات حلزونية.

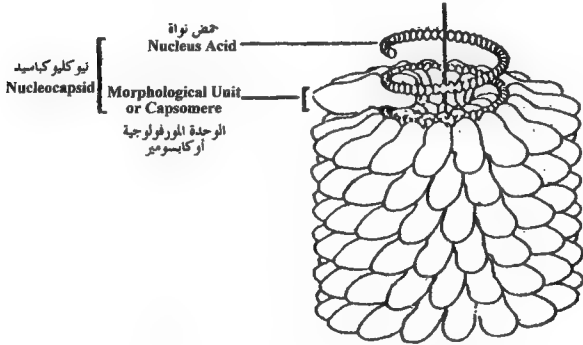
٢ - السيمتريّة المكعبة (C) Cubical symmetry أو ذات الأوجه المتساوية Sometric symmetry.

وقد وجد أن كل الفيروسات العصوية الشكل التي فحصت هي حلزونية السيمتريّة أكثر من أن تكون أسطوانية، وأن وجود حمض النواة ربما يكون هو العامل المسبب لهذا الترتيب - كما تظهر نيوكليوكايسيدات بعض هذه الفيروسات أكثر صلابة rigid كما في فيروس موزيك الدخان (TMV)، بينما يوجد فيها ما هو رخو تقريباً Flexible كفيروس موزيك البطاطس (PVX). وهذا دليل على أن الروابط التي تربط الوحدات البنائية تكون في لفات متعاقبة قوية بالنسبة للفيروس الأول (TMV) وأقل قوة ومتانة بالنسبة للفيروس الثاني (PVX).

بينما الفيروسات الكروية أو الدائرية الشكل، فهي تتبع السيمتريّة المكعبة، حيث ترتب تحت الوحدات حول رؤوس Vertices أو أوجه Faces ذات سيمتريّة مكعبة مثل الرباعية الأوجه tetrahedron أو مكعب ذات اثني عشر (١٢) وجهاً Dodecahedron أو عديد

الأوجه Icosahedron ذات عشرين وجه مثلث متساوي الأضلاع Triangle face وثلاثين حافة Vertices، واثنى عشر قمة Edges وهو الشكل المميز للفيروسات الكروية ويسمى Icosahedron ايكوزاهيدرال.

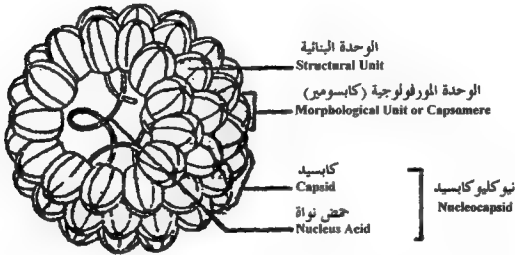
وقد حظي فيروس موزيك الدخان بدراسات واسعة لتركيبه البنائي كمثال للفيروسات ذات السيمتريّة الحلزونية، وقد وجد أن جزيئات الفيروس تظهر كأسطوانة قطرها ١٥ نانوميتر وطولها ٣٠٠ نانوميتر، وأصبحت هناك صورة واضحة حقيقية، توضح أن الاسطوانة تتكون من وحدات بروتينية (كابسوميرات) تكون متراصة بجانب بعضها البعض، وتشكل في شكل حلزوني حول محور الجزيء بفرغ في وسطها قطرة $40^\circ A$ أنجستروم والكبسوميرات ذات شكل بيضي Ellipsoid، وتشمل كل لفة على ١٦ كبسوميرة تتكرر كل ٦٩ أنجستروم، ويصل مجموع الكبسوميرات في الفيروس إلى $2 + 2130$ ٪ والوزن الجزيئي للوحدة ١٧٣٠٠ دالتون.



شكل (٢-٢): رسم تخطيطي يمثل نيوكليوكابسيد لجزيء فيروس حلزوني للسيمتريّة (TMV).

وللفيرون 610×39 دالتون، بينما الوزن الجزيئي لحمض النواه RNA هو $610 \times 2,6$ دالتون. يكون وسط الجزيء أجوف، وعلى سطحه ترتب تحت الوحدات في نظام حلزوني لها Pitch حوالي $23^\circ A$ أنجستروم ونصف قطر Radial ٧٥ أنجستروم (شكل ٢).

وبالنسبة للسيمتيرية المكعبة فإن كثير أمن الفيروسات ذات كابسيدات كروية -Spheri-cal، تظهر فى الميكروسكوب الإلكتروني ذات أوجه عديدة. وتظهر الوحدات البنائية التى ترى فى الصورة كابسوميرات Capsomeres أو الوحدات المورفولوجية دائرية الشكل أو منشورية مسطحة أو مفرغة. وهذه بدورها تتكون من وحدات أقل، توجد منفردة أو فى مجاميع، والتى هى الجزئيات البروتينية المكونة للجزء الخاص بغطاء الكابسيد Capsid shell (شكل ٢ - ٤).



شكل (٢ - ٤): رسم تخطيطي يبين التركيب البنائي لجزء فيروس كروي
ذى سيمتيرية مكعبة.

أما معرفة الشكل الذى يوجد فيه حمض النواة داخل الجزئيات الفيروسية ذات السيمتيرية المكعبة، فهذا غير مؤكد تماماً، إلا أنه لا بد وأن يكون حمض النواة ملتفاً بطريقة ما. أظهر هذا النظام أو الترتيب الداخلى بدراسة مستفيضة لفيروس موزيك اللفت الأصفر (TUMV) على أنه عقد Knobs موجودة فى علاقة سيمتيرية مع كابسوميرات الغطاء Shell وقطره 190 \AA ووسط مفرغ محاط بدائرة من الحمض RNA، والذى بدوره محاط بدائرة خارجية من البروتين.



ترتيب تحت الوحدات في رؤوس المثلث



ترتيب تحت الوحدات حول القمم



ترتيب تحت الوحدات على الأوجه (مربع)



ترتيب تحت الوحدات على أوجه المثلث Nonagons

شكل (٢ - ٥): الأشكال المختلفة للترتيبات الممكنة للأشياء ذات الأوجه للثلاثة أو الاربعة لتكوين السيمترية للكعبة.

وتشمل السيمتيرية المكعبة عدداً من الانظمة منها : ذات أربعة اوجه Tetrahedron، وذات ١٢ وجهاً Dodecohedron، وذات عشرين وجهاً Icosahedron.

كما أن نظرية كاسبر وكلج (Casper and Klug, 1962) للأشكال المختلفة للكابسيدات ذات الأوجه في الصور الإلكترونية، تبدأ باعتبارات بلورية Crystallographic consideration تقول بأن الانظمة ذات السيمتيرية المكعبة يمكنها أن تكون اغطية متشابهة Isometric shells وذلك بواسطة وضع وحدات متشابهة في حالة منتظمة - Qui valent على السطح Sphere، ويمثل نظام سيمتيرية ايكوزاهيدرال Icosahedral، وفي هذه الحالة فإن (٦٠) ستين تحت وحدة متشابهة ترتبط فيما بينها، وتوضع على سطح دائري.

الأغلفة Envelopes :

قد تحاط كابسيدات بعض الفيروسات بغلاف خارجي أو أكثر، يطلق عليه الظرف En-velope وتوجد الأغلفة بصفة خاصة في فيروسات الحيوان، وقليلاً ما توجد في فيروسات النبات والبكتريا. وقد وجد في كثير من الحالات أن مادة الأغلفة لها علاقة كيميائية وسميولوجية ببعض محتويات جدار الخلية، وأظهرت صور الميكروسكوب الإلكتروني لقطاعات في خلايا مصابة بالفيروس وجود الكبسيدات تحت جدار الخلية مباشرة.

يتكون الغلاف الخارجى من تحت وحدات مرتبة بنظام معين، وقد يكون الغلاف الخارجى مكوناً من طبقة واحدة أو أكثر.

الفيروسات غير الكاملة Incomplete Virions :

وجد أن كل التحضيرات للفيروسات من الخلايا المصابة تحتوى بجانب الفيروسات على محتويات أخرى لها النشاط الفيروسي. وفي معظم الحالات فإن مثل هذه المحتويات ذات علاقة مباشرة مورفولوجية وكيميائية لبعض محتويات الفيروسات. فمثلاً تحتوى النباتات

فيروسات الذبذبات

المصابة بفيروس موزيك الدخان (TMV) على بروتين X، الذى يختلف عن بروتين A الذى يستخلص من الفيروسات الكاملة.

وفى الخلايا التى تصاب بفيروسات ذات سيمتريات مكعبة، فإنه غالباً ما تصحب بكبسيدات فارغة، كما هو الحال فى فيروس موزيك اللفت، وهذه الكبسيدات الفارغة أخف من الكبسيدات الكاملة، ويمكن فصلها بواسطة الطرد المركزى، وأحياناً ما تحتوى مثل هذه الكبسيدات على كمية قليلة من حمض النواة.

هذه الكبسيدات الفارغة ما هى إلا فيروسات فقدت حمض النواة - أو أغلفة تكونت دون الحمض أو ربما تكونت كبدائية لتكوين الفيروسات.

الفصل الثاني

التركيب الكيميائي لفيروسات النبات

CHEMICAL COMPOSITION OF PLANT VIRUSES

لقد دلت الدراسات بأن جميع الفيروسات التي أمكن عزلها بصورة نقية تتكون من بروتين وحامض نووي. لذا يمكن القول بأن جميع الفيروسات المتكاملة تتكون بصورة رئيسية من نوع واحد أو أكثر من البروتينات، ومن نوع واحد فقط من الحامض النووي الذي إما أن يكون من نوع RNA أو DNA.

تختلف النسبة المئوية والوزن الجزيئي للحامض النووي وللبروتين في الفيروس الواحد باختلاف الفيروسات، ويبين الجدول التالي النسبة المئوية والوزن الجزيئي للأحماض النووية والبروتين لبعض فيروسات النبات.

جدول (٢ - ١): نوع الحامض النووي والوزن الجزيئي والنسبة المئوية للحامض النووي والنسبة المئوية للبروتين في بعض فيروسات النبات.

الفيروس	نوع الحامض النووي	% الحامض النووي	الوزن الجزيئي للحامض النووي (مليون دالتون)	% بروتين
Cauliflower mosaic	DNA	١٦	٤,٧	٨٤
Cowpea mosaic	RNA	٢٣	١,٧	٦٧
Pea enation mosaic	RNA	٢٩	١,٦	٧١
potato X	RNA	٦	١,٠	٩٤
Tobacco mosaic	RNA	•	٢,٠٥	٩٥
Tobacco necrosis	RNA	٢٠	٦,٦	٨٠
Tobacco ring spot	RNA	٤٠	٢,٠	٦٠
Tomato bushy stunt	RNA	١٧	١,٥	٨٣
Wild cucumber mosaic	RNA	٣٥	٢,٤	٦٥
Wound tumour	RNA	٢٣	١,٠	٧٧

فيروسات النبات أولاً: الحمض النووي:

تتكون الأحماض النووية للفيروسات - كمثيلاتها في الكائنات الأخرى في الطبيعة - من سلاسل غير متفرعة من عديد من النيوكليوتيدات Nucleotides، ويتكون كل نيوكليوتيد من جزئى سكر وقاعدة نيتروجينية وفوسفات.

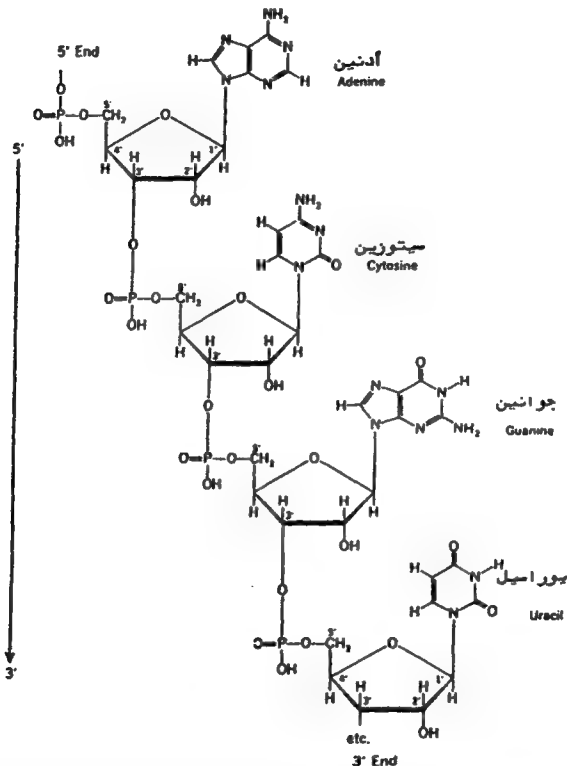
ويتكون الهيكل الأساسى لهذين النوعين من الحمضين النوويين (DNA , RNA) من سلاسل بها جزيئات فوسفات وسكر خماسى بالتبادل، ويتصل بكل جزئى من جزيئات السكر قاعدة نيتروجينية إما من نوع البيورين أو البريميدين، والسكر الموجود بجزئى الحامض النووى رن RNA هو سكر الريبوز، بينما فى جزئى الحامض النووى دن DNA فإن السكر الموجود هو سكر دى - أوكسى - ريبوز Deoxyribose، وتعنى انه سكر ريبوز منزوع منه ذرة أوكسجين من ذرة الكربون رقم ٢. ويوضح الشكل (٢ - ٦: ١، ب) التركيب البنائى لكل من الريبوز والدى - أوكسى ريبوز.

ومن الملاحظ أن الأحماض النووية تتركب من وحدات متكررة مكونة من قاعدة نيتروجينية (بيورين أو بريميدين) وسكر خماسى (ريبوز أو دى - أوكسى - ريبوز) ومجموعة فوسفات، وكل وحدة من هذه الوحدات المتكررة تسمى «نيوكليوتيد» Nucleotide، وترتبط النيوكليوتيدات الأحادية ببعضها بواسطة جزئى الفوسفات عن طريق رابطة ثنائية الإستر، مع مكان المجاميع الهيدروكسيلية الموجودة على الكربون الثالث والخامس (٣، ٥) بالسكر الخماسى، كما يظهر بوضوح فى الشكل (٦ - ١، ب) لكل من رن، دن، والمركب الناتج من ارتباط النيوكليوتيدات Polynucleotides الأحادية يعرف باسم عديدات النيوكليوتيدات.

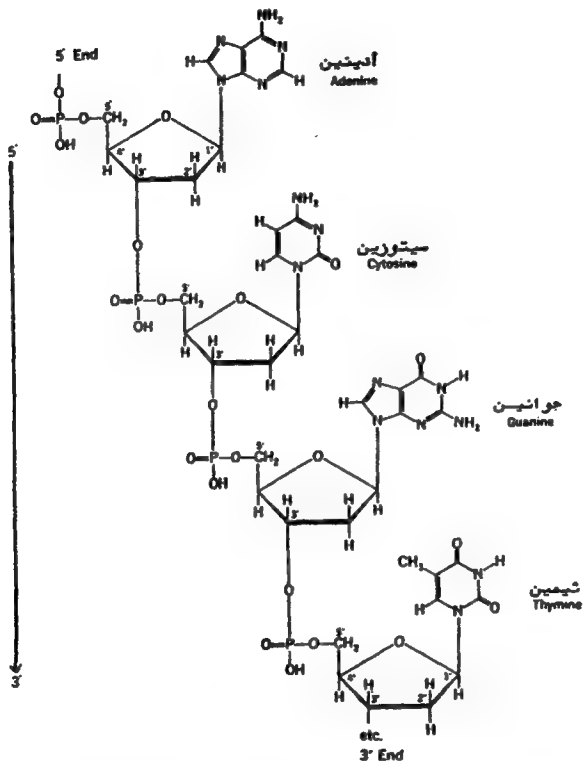
ويختلف RNA عن DNA من حيث التركيب فى نقطتين، هما:

١ - الاختلاف فى جزئى السكر، حيث يكون من نوع Ribose فى RNA، بينما تكون من نوع Deoxyribose فى DNA.

٢ - يحتوى كل من RNA ، DNA على أربع قواعد نيتروجينية منها ثلاث الأدينين والجوانين من البيورينات والسيتوزين من البيريميدينات مشتركة بين RNA ، DNA ، بينما تختلف بالنسبة للقاعدة الرابعة، حيث يحتوى DNA على الثيمين، ويحتوى RNA على اليوراسيل.



شكل (٦:١) : التركيب البنائي لسلسلة عديدات الريبونوكليوتيدات لتوضيح الرابطة ثنائية الاستر بين جزيئات سكر الريبوز بواسطة مجموعات الفوسفات. وكذلك توضيح الرابطة بين جزيئات سكر الريبوز والقواعد النيتروجينية أدنين-سيتوزين-جوانين-يوراسيل.



شكل (٦:٧ - ب): التركيب البنائي لسلسلة عديدات الادي لوكسي ريبيديو كلوتيدات. لتوضيح
 الرابطة لثنائية الاستر بين جزيئات سكر الادي لوكسي ريبيزو بواسطة مجموعات
 الفوسفات، وكذلك توضيح الرابطة بين جزيئات سكر الادي لوكسي ريبيزو،
 والقواعد النيتروجينية أدين- سيتوزين- جوانين- ثيمين.

ومن الحقائق المعروفة اليوم أن الحمض النووي في الفيروسات هو المادة الوراثية لها؛ حيث يتميز بقدرته على التضاعف وإحداث العدوى، وتصنيع الغلاف البروتيني الخاص بالفيروس.

ولما كان الحامض النووي هو المادة الوراثية للفيروسات، فمن البديهي بأنه كلما زادت كتلة الفيروس والنسبة المئوية للحامض النووي فيها، كان الفيروس أعقد تركيباً.

قد يكون الحامض النووي للفيروس أحادي الخيط (Single-Stranded)، كما هو الحال في فيروس موزيك الدخان TMV أو ثنائي (Double-Stranded) في بعض الفيروسات، مثل فيروس تقزم الأرز Rice dwarf virus (RDV) وفيروس أورام الجروح wound tumor virus، وأن الحامض النووي لهذه الفيروسات هو من نوع RNA ر ن أ.

في معظم فيروسات النبات التي درست بصورة جيدة، وجد بأن الحامض النووي فيها كان من نوع RNA، إلا أن هناك بعض الفيروسات التي وجد بأن الحامض النووي فيها كان من نوع DNA.

فقد اكتشف شبرد وزملاؤه في عام ١٩٦٨ بأن فيروس موزيك القرنبيط Cauliflower Mosaic Virus يحتوى على DNA وهو ثنائي الخيط. كما أن أحد الفيروسات التي اكتشفت على الإشنات الزرقاء - الخضراء Blue-Green algae Virus تحتوى على DNA وهو ثنائي الخيط، ووجد أن مجموعة الجيمي Geminiviruses تحتوى على DNA أحادي الخيط ssDNA مثل فيروس تجمع أوراق الطماطم الأصفر.

ويكون موقع الحامض النووي في داخل جزئ الفيروس ومحاطاً من جميع جوانبه بالغلاف البروتيني الذي نعتقد بأنه الغطاء الواقى للحامض النووي من تأثير الإنزيمات عليه، وبصورة خاصة إنزيمات النيوكلييز Nuclease التي تقوم بتحليل الأحماض النووية. ولأجل أن يكون هذا الغطاء الواقى فعالاً، يجب أن يكون مقاوماً للإنزيمات التي تحلل البروتينات، والتي تسمى Proteolytic enzymes المتواجدة في خلايا الكائنات الحية. ويظهر أن الغلاف البروتيني فعلاً يتميز بمقاومة هذه الإنزيمات بالنسبة لمعظم الفيروسات التي درست بصورة مفصلة، ويعتقد بأن هذا التركيب للغلاف البروتيني حدث نتيجة للانتخاب الطبيعي، أثناء نشوء وتطور الفيروسات في الطبيعة.

ثانياً : الغلاف البروتيني أو الحفظة Protein Coat or Capsid :

يشكل الغلاف البروتيني المعروف بالحفظة Capsid معظم كتلة الفيروس، وخاصة في الفيروسات الصغيرة (الفيروس Virion هو جسيمة فيروس كاملة؛ أى تحتوى على الحامض النووي والغلاف البروتيني وبقية المكونات الاخرى إن وجدت).

ونظراً لحجم الفيروسات المتناهي الصغير، والذي يترتب عليه صغر حجم مادته الوراثية Genome Size فإن الفيروسات لا يمكنها أن تخصص إلا جزءاً محدوداً من مجموع مادتها الوراثية (عدد محدود من الجينات Genes) لبناء بروتين الحفظة، وعلى ذلك فإن الحفظة لا بد وأن تتكون - بالضرورة - من وحدات بروتينية متشابهة Identical Protein Subunits والوحدات البروتينية التى تكون الغطاء البروتيني، تسمى الكابسومرات Capsomeres، ومفردها كابسومر Capsomere .

تتكون البروتينات بصورة عامة من سلاسل طويلة وغير متفرعة من البوليبيبتيدات Polypeptides، وتتكون هذه الأخيرة من وحدات بنائية أساسية هى الأحماض الأمينية Amino acids .

وتحتوى البروتينات المختلفة على حوالى عشرين حمضاً أمينياً مختلفاً. ويختلف ترتيب هذه الأحماض الأمينية ونسبتها فى البروتينات المختلفة. وترتبط هذه الأحماض الأمينية ببعضها فى سلسلة بواسطة روابط بيبتيديّة عن طريق اتحاد مجموعة الكربوكسيل فى أحد الأحماض الأمينية بمجموعة الأمين فى الحمض الأميني التالى له، مع فقد جزئ ماء. وعند تكوين سلسلة من عدد من الأحماض الأمينية فإنه يطلق عليها اسم سلسلة بيبتيديّة. ولكل سلسلة بيبتيديّة نهايتان (طرفان)، أحدهما يحتوى على مجموعة كربوكسيل غير مرتبطة وتسمى النهاية الكربوكسيلية، والطرف التالى يحتوى مجموعة أمينية غير مرتبطة وتسمى النهاية الأمينية. وتتكون البروتينات من سلاسل بيبتيديّة ذات عدد مرتفع من وحدات الأحماض الأمينية وللبروتينات مستويات مختلفة من التركيب، تتقدم بتقدم مستوى تعقيد البروتين.

وتسلسل الأحماض الأمينية فى أى بروتين يعتبر على درجة كبيرة من الأهمية. وتغير هذا التسلسل قد يؤدى إلى فقد نشاط البروتين.

ثالثاً: مكونات أخرى Other Constituents :

بالإضافة للبروتين والحامض النووي، فقد وجد بأن بعض الفيروسات تحتوى على مكونات أخرى مثل مركبات البولي أمين Polamines والدهون Lipids، والتي أهمها Phospholipids، وتتميز معظم هذه الفيروسات باحتوائها على غشاء خارجي يحيط بالغلاف البروتيني ويدعى Envelope.

إن وجود هذه المركبات يكون شائعاً في الفيروسات التي تصيب الحيوان، بينما نجدها مقتصرة على فيروسات قليلة من فيروسات النبات مثل فيروس التقزم الأصفر في البطاطس Potato yellow dwarf virus، الذي يحتوى على ٢٠٪ مركبات دهنية، وفيروس الذبول المبقع في الطماطم Tomato spotted wilt V، الذي يحتوى على ١٩٪ من المركبات الدهنية، ٥٪ كربوهيدرات.

الفصل الثالث

الجينوم الفيروس

VIRAL GENOME

تظهر الأحماض النووية بالفيروسات تنظيمات ملحوظة لأنواع تركيبية وتكوينية تميز كل جزئ فيروسي عن الآخر، ويمكن القول بأنه توجد أربعة أشكال من الأحماض النووية في الفيروسات:

- ١ - حمض نواة ssRNA وحيد الضفيرة مثل معظم فيروسات النبات.
- ٢ - حمض نواة ssDNA وحيد الضفيرة مثل فيروس بكتريا القولون M3 q x 174.
- ٣ - حمض نواة ريبو ds RNA ثنائي الضفيرة مثل فيروس التدرد الجرحي (WTV) وفيروس تقزم الأرز والـ Reoviruses.
- ٤ - حمض نواة DNA ثنائي الضفيرة مثل بعض فيروسات الحيوان وفيروس موزيك القرنيط (CaMV).

وتوجد جميع الأشكال الأربعة ممثلة في فيروسات الحيوان أما فيروسات النبات فتحتوى على شكل حمض النواة ريبو ويوجد قليل جداً من الفيروسات النباتية التى تحتوى على حمض النواة DNA مثل فيروس موزيك القرنيط.

وجد أن معظم فيروسات حمض النواة ss-RNA وزنه الجزيئى $2 \times 10^6 - 3 \times 10^6$ ، وفى حالة حمض النواة ds RNA فإن الوزن الجزيئى أكبر خمس مرات تقريباً أى 10×10^6 ، أما فيروسات حمض النواة DNA فهى ذات وزن جزيئى مرتفع، وتختلف عن فيروسات حمض النواة RNA، إلا أن هناك فيروسات يطلق عليها الفيروسات ذات المحتويات المتعددة Multicomponent، وهى تلك ذات الجزيئات العديدة أو الأجزاء المختلفة من حمض النواة، وحيث إن الجينوم المتعدد يعتبر الآن ضمن هذه الخصائص، إلا أننا سنتناول هنا

الانظمة المتعارف عليها جيداً رغم وجود حجج قوية لانقسام الجينوم في بعض من الفيروسات مثل فيروس الموزيك والنموات الزائدة في البسلة (PEMV) وفيروس موزيك وتخطيط الشعير (BSMV)، وتظهر هذه الانظمة أيضاً في بعض الفيروسات ذات حمض النواة ds DNA من فيروسات النبات أو الفطر أو البكتيريا.

أولاً: الجينوم الثنائي Bipartite genomes :

١ - مجموعة توبرا فيروس Tobravirus group :

تشمل هذه المجموعة فيروسات عديدة تظهر اختلافاً في الشكل المورفولوجي مثل فيروس القرع في الدخان (TRV)، وفيروس اللون البني المبكر في البسلة (PEBV) ويحتوي الجينوم فيهم على قطعتين غير متساويتين من حمض النواة RNA، موجودة داخل جزيئات أنيوية وأسطوانية قصيرة أو طويلة نسبياً، وتوجد المعلومات الوراثية الخاصة بعمليات التضاعف في الجزيئات الطويلة، أما الجزيئات القصيرة تختص بالتركيب الفردي للبروتين Single structural of protein، لهذا فإن الجزيئات الطويلة معدية، ولكنها تؤدي إلى تكوين حمض نواة RNA غير مغلف ولكنه معدى أيضاً، أما الجزيئات الصغيرة وحمض النواة الذي بها لا يحدث العدوى ولكنها ضرورية لإنتاج الفيروس، ولا يبين تداخل الجزيئات الطويلة والقصيرة لحمض النواة RNA القدرة على إنتاج بعض الفيروسات المختلطة الهجين Hybrid والمحتوى على حمض النواة من سلالات مختلفة، ويحتاج إنتاج مثل هذا الهجين Hybrid إلى عمليات وراثية مختلفة من الإنزيم الخاص لاحماض النواة RNAs.

٢ - مجموعة كوموفيروس Comovirus group :

تحتوي هذه المجموعة على عديد من الفيروسات، تظهر اختلافات في الكثافة النوعية ينظر إليها على أنها مميزة، ولكن جميعها تميز بجينوم ينقسم بين محتويين من النيوكليوتيد (وسطى وسفلى)، وهما جزيئات متماثلة Isometric ذات حجم واحد ولكنها تختلف في كثافتها النوعية عند الترسيب، ويوجد أيضاً جزيئات شبيهة ولكنها فارغة وتظل في أعلى، أما الغلاف البروتيني بالنسبة لجزيئات الاقسام متشابهة، ويقترح أن

عمليات التضاعف توزع بينهما وأن ليس لجينوم أحدهما القدرة على الإصابة وحده، وكذلك فإن هذا حقيقى لتكوين نوعى البروتين (بروتين فارغ وآخر ممتلى) وتوجد بعض الوظائف تحدد النسبة بين أنواع الجزيئات، وتظهر بعض المظاهر على أنها مميزة لجينوم واحد.

٣ - مجموعة نيبوفيروس *Nepovirus group* :

يحتمل أن تحتوى كل أعضاء هذه المجموعة ذات الفيروسات المتماثلة *Isometric* على جينومات متشابهة مقسمة، ورغم هذا فإنه على الأقل يوجد فيروس واحد يستثنى فى أن له تكوينات من البروتين بدلاً من تركيب واحد، ففي فيروس البقع الحلقية فى الراسبرى (*RRSV*)، وهو الذى درس أكثر فإن كل الجزيئات ذات حجم متماثل، ولكنها تنقسم إلى ثلاث مجاميع من ناحية الترسيب عاكسة بذلك ما تحتويه من حمض النواة RNA_2 ، فالجزء العلوى *Top* يحتوى على كابسيدات فارغة، والجزء الوسطى *Middle RNA* يحتوى على RNA الذى وزنه الجزيئى 1.4×10^6 والجزء السفلى *bottom* يحتوى على كل من RNA_2 مضافاً إليه RNA_1 ووزنه الجزيئى 2×10^6 دالتون ولا يمكن أن يعدى وحده وأن RNA_3 ذو تأثير معدٍ ضعيف، وربما يرجع هذا التأثير الضعيف إلى التلوث، أما الحمضان فهما ضروريان للتضاعف.

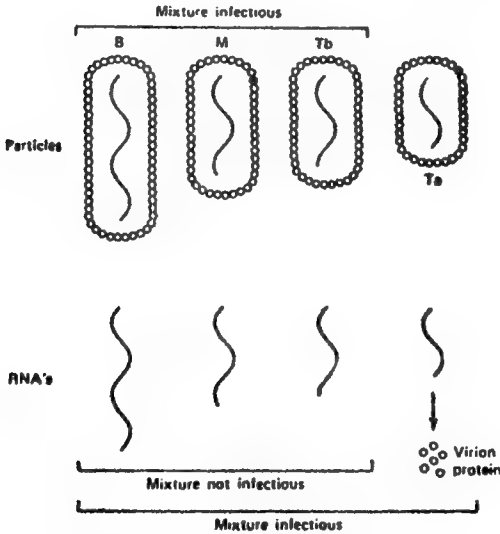
ثانياً : الجينوم الثلاثى *Tripartite genomes* : وله الأشكال التالية :

١ - فيروس موزيك البرسيم الحجازى *Alfalfa Mosaic Virus (AMV)* :

وجد اختلاف فى المورفولوجى (فى الطول). سببت صعوبة فصل هذا الفيروس إلى مجاميعه الترسيبية مشكلة فى تعرف الجينومات التى به بالضبط، ويظهر أن هناك أربعة من الجزيئات يمكن تمييزها تمييزاً بيولوجياً.

كما تحتوى جميع الأشكال على بروتين واحد (البروتين نفسه). وهى عصبوية فى شكلها *Bacilliform*، ولكنها بأطوال مختلفة فهى أطول فى القاع ثم الوسط ثم القمة ١ والقمة ب، وتحتوى هذه الجزيئات على كود حمض RNA لأعمال مخصصة، فالجينومات الثلاثة ذات الحمض الطويل RNA_3 ، RNA_2 ، RNA_1 تحتوى على كمية الحمض الكافية

للإصابة فهي تحتوى وراثياً على RNA أساساً ولكن لابد من أن يصاحبها RNA₄ الحمض النووى فى القمة أو نواتجه Translation وغلافه البروتينى حتى تحدث الإصابة، وفى كلتا الحالتين ينتج RNA₄، ولهذا فإن تتابع النيوكليوتيدات يكون مزدوجاً فى مكان ما فى الجينوم، ولقد اتضح عديد من وظائف الحمض RNA₁، RNA₂، RNA₃، بطريقة الترقيم Markers فى إنتاج فيروسات هجن، ولكنه غير معروف أى كود هى الخاصة بالتضاعف (شكل ٢ - ٨).



شكل (٢ - ٨): الأشكال المختلفة لحمض RNA ووظائفها في فيروس موزيك البرسيم (الفالفا) الحجازي.

٢ - مجموعة فيروس التخطيط في الدخان Tobacco streak virus

يمثل هذا الفيروس مجموعة من الفيروسات الكروية المتماثلة Isometric، والتي تشتمل على فيروس موزيك التفاح (APMV) وفيروس تبقع أشجار الدردار (ELM) وريجوس الموالح (CLRV)، كما يوجد العديد من الفيروسات الكروية المتماثلة الغير تامة والتي عزلت أولاً من النباتات الخشبية المعمرة Perennials، وينقسم الجينوم بين أقسام مختلفة من الجزئيات تمثل فيروسات ذات التركيب البروتيني الواحد ونفس نسبة الحمض إلى البروتين، ولكن يختلف الترسيب لاختلاف الحجم، ومن الصعب فصل الجزئيات المختلفة عن بعضها، وإن أقسام الحمض المختلفة يحتمل أنها لا تتمشى مع تصنيف الجزئيات والوضع المعقد لوظائف الجينوم، كما في فيروس موزيك البرسيم الحجازي (AMV)، وغالباً فإن الجينوم الاساسي يقسم إلى ثلاث أو أربع أصناف من الحمض النووي يطلق عليها من ١ - ٣ تبعاً لصغر الحجم، ولكن حمض RNA_٤ أو البروتين المغلف ضروري لعملية الإصابة، كما أن حمض RNA_٥ أو الغلاف البروتيني لفيروس التخطيط في الدخان (TSV) يحل محل Substitute المحتويات المتشابهة في نظام فيروس موزيك البرسيم الحجازي والعكس، وعلى أساس هذه القواعد فإن هذه الفيروسات ضمت إلى مجموعة فيروس موزيك البرسيم الحجازي (AMV).

٣ - مجموعة البروموفيروس والكيوكوموفيروس

:Bromovirus and Cucumovirus groups

لوحظ أن نيوكليوبروتين هذه الفيروسات ذات حجم متماثل يحتوى على تكوين واحد للبروتين، ويرسب كصنف واحد، ويشمل جينومات غير متطابقة Heterogenicity، وهذا مرتبط مع المحتويات الغير موحدة من الحمض للجزئيات، وتقريباً يحتوى الجينوم الاساسي ثلاثة أصناف فقط من الحمض النووي، وهذه ترقم من ١ - ٣ طبقاً للحجم التنازلي، والحمض النووي الرابع RNA_٤، يعمل كرسول mRNA لتكوين الغلاف البروتيني في نظام تمثيل البروتين الحر في الخلية، ولكن أصله غير مميز Obscure ولا يظهر أنه يتشابه في عمله مع الحمض الرابع RNA_٤ لفيروس موزيك البرسيم (AMV₂) ولا مع بروتين الغلاف

الضروري للعدوى، وظهرت تجارب التهجين Hybridization بواسطة حمض النواة RNA من سلالات ذات قرابة ان RNA₃ (وهو رسول لتكوين الغلاف البروتيني أيضاً) يسبب Mediates تعديلات وسطية في الغلاف البروتيني، بينما مظاهر إصابة مختلفة تتغير بواسطة حمض النواة ١، ٢، ٣، وأمكن أيضاً تخليق فيروسات مهجنة بواسطة استعمال حمض النواة من فيروسات البروموفيروس Bromoviruses، والتي لها قرابة بسيطة ولكن حدود التخصص في التهجين غير واضحة.

كما سبق يتضح أن جينوم الفيروسات السابقة (فيروس موزيك البرسيم AMV) ومجموعة البروموفيروس Bromoviruses، والذي يمثلها فيروس موزيك البروم BrMV ومجموعة كيوكوموفيروس Cucumovirus، والذي يمثلها فيروس موزيك الخيار (CMV)، وفيروس التخطيطيط في الدخان (TSV)، وفيروس ريجوس ورقة الموالح (CLR) والفيروس القريب سيروولوجياً وهو انكسار لون ورقة الموالح (CVV). يتكون حمض النواة RNA لكل هذه الفيروسات من أربعة أنواع أساسية، ثلاثة ذات أوزان جزيئية تتراوح من ١٠٧ - ١٠١ X ١٠ دالتون ونوع وزنه الجزيئي حوالي ٣٠ X ١٠ دالتون وترتب الأحماض النووية RNA (١، ٢، ٣، ٤) في ترتيب تنازلي بالنسبة للوزن الجزيئي، ويتكون الجينوم في هذه الفيروسات من ١، ٢، ٣، بينما وضع أن النوع الرابع في بعضها يحتوى على معلومات وراثية من أجل تكوين الغلاف البروتيني.

وقد وضع أن خليطاً من الحمض النووي (١، ٢، ٣) يكون معدياً في حالة مجموعة Bromoviruses ومجموعة فيروسات Cucumoviruses، بينما أحماض النواة ريبون فيروس موزيك البرسيم (AMV) وريجوس ورقة الموالح (CLR) وفيروس التخطيطيط في الدخان (TSV) وفيروس انكسار اللون في ورقة الموالح (CVV) تحتاج حتى تصبح قابلة لإحداث العدوى تحتاج إلى تنشيط بواسطة غلافها البروتيني، وأن دور الغلاف البروتيني ليس فقط لحماية حمض النواة RNA المعدى أثناء اختراقه الخلايا، حيث إن mRNA للغلاف البروتيني RNA_١ يمكنه أيضاً تنشيط جينوم الفيروس Translation of the RNAs of multicomponent viruses.

عملت دراسة في جامعة ويسكونسون كلية الزراعة والمياه، انتضخ منها الآتي:

حيث إنه من المعروف أن المعلومات الوراثية للفيروسات عديدة الجينوم تتوزع بين الأنواع المختلفة لحمض النواه RNA، فقد وجد أن أصغرها RNA_p ، والذي لا حاجة له في إحداث العدوى يعتبر رسول mRNA لتكوين الغلاف البروتيني، وقد وجدوا أنه بالنسبة لكل الفيروسات العديدة الجينوم، وعندما يستعمل الحمض المركب الكلي ١ - ٤، فإن أصغرها وهو سيسترون الغلاف البروتيني Monocistronic ينقل Transplanted جيداً، ويقترحوا أن حمض النواة ١، ٢ مثل كثير من الرسل لفيروسات الحيوان والثدييات ربما تكون Monocistronic.

والآن حيث عرف التركيب الكيميائي للفيروس .. فإنه من الممكن تفسير كثير من الخواص البيولوجية على المستوى الجزيئي، ويمكن القول: إن هذا الجزء الصغير من جينوم الفيروس مجهز للقيام بكثير من العمليات، ومن العمليات المستقلة منها رسول منظم Regulated messenger وكوحدة للتضاعف Unit of replication وكسبب مرضي معدٍ . An infective pathogenic agent

تعرف الجينوم الفيروسي:

لتعرف طبيعة الحمض النووي الفيروسي سواء كان DNA أو RNA، وسواء كان وحيد الخيط ss أو ثنائي الخيط ds، وسواء كان مستديراً أو خيطياً، توجد طرق متعددة قياسية طبيعية أو كيميائية أو إنزيمية. وتقوم الطرق الكيميائية والإنزيمية بتعرف التركيب الخاص عند النهاية الخامسة أو الثالثة للحمض النووي الخيطي. كما يعطى استخدام الإليكتروفوريس نتائج لا بأس بها في تقدير الوزن الجزيئي للحمض النووي DNA أو RNA عند استخدامها في صورتها النقية، كما يعطى فكرة عن عدد المناطق المختلفة في الحجم للجينوم الفيروسي. كما تتعدد الطرق التكنولوجية الحديثة عند تعرف التركيب البنائي للجينوم الفيروسي وعن كيفية تضاعف الفيروسات، وتعتبر دراسة التركيب البنائي للجينوم الفيروسي على جانب كبير من الأهمية في دراسة الفيروس داخل النبات، وكذا علاقة الفيروس بالفيروسات الأخرى ولكل من ذلك ناحية نظرية وأخرى عملية.

أولاً الفيروس داخل النبات :

من الناحية النظرية فإن معرفة الجينات الفيروسية والنواحي التي تسجلها تعتبر البداية التي توصل إلى تفهم كيف تحدث الفيروسات المرض .

ومن الناحية العملية فإن القدرة على تعريف وعزل جينوم فيروس ما وتتبعها داخل النبات العائل تعطى الفرصة لتفهم وظائف الجينوم الفيروسي وتساعد إلى حد ما في التوصل إلى طرق مقاومة المرض الفيروسي .

ثانياً : علاقة الفيروس بالفيروسات الأخرى :

من الناحية النظرية فإن معرفة تتابع النيوكليوتيدات لعدد كبير من الجينوم الفيروسي يعتبر أمراً على جانب كبير من الأهمية في المساعدة على تقسيم الفيروسات؛ حيث إن التتابع أو ترتيب النيوكليوتيدات قد يظهر علاقات غير متوقعة بين الفيروسات، كما أن هذه المعلومات تتم بداية بتفهم كيفية بناء الفيروسات، كما أن استخدام الحاسبات الآلية في مقارنة التتابع النيوكليوتيدي بين العديد من الفيروسات وبعضها الآخر، وكذا التتابع المسئول عن البروتين قد يتيح في بعض الأحيان تعرف وظائف البروتين الفيروسي .

ومن الناحية العملية فإن من الأمور الأساسية أن نكون قادرين على تعريف الفيروس وحتى السلالة الفيروسية، قبل أن نستطيع التوصل إلى طرق المقاومة الفعالة للفيروس المسبب للمرض في محصول معين أو في منطقة معينة، وتعريف الفيروس يستلزم خطة عمل فعالة لتقسيم الفيروسات المسئولة وسلالاتها، وكذا طرق تعريف الفيروس التي سبق الإشارة إليها، ودراسة التتابع النيوكليوتيدي على جانب كبير من الأهمية في كلا الأمرين .

استخلاص الحمض النووي الفيروسي :

استخلاص الحمض النووي الرايبوزي RNA من التحضيرات النقية والمنقاة جزئياً وفصله عن الغلاف البروتيني وغيرها من المكونات الفيروسية الأخرى مثل الليبيدات . وأغلب الأعمال الأولى التي أجريت على الحمض النووي الفيروسي أغفلت مدى تحمل جزيء RNA، ولهذا فإن الأحماض النووية التي عزلت في ذلك الوقت تعرضت لتهدم شديد،

وحيث إنه ظهر أن الحمض النووى الفيروى هو المسئول عن العدوى، فأصبح من الضرورى فصل الحمض النووى فى صورته المعدية، أو فصل الحمض النووى بصورة أقرب ما تكون إلى الصورة الموجودة عليها فى الجسيمة الفيروسية.

وفى الوقت الحاضر أصبح من الممكن إزالة البروتين الفيروسى وفصل الحمض النووى باستخدام بعض الطرق الكيماوية، ودون أن يطرأ تغير على الحمض النووى أو قدرته على العدوى.

وتوجد مجموعة من العوامل ذات الأهمية القصوى، عند فصل الحمض النووى المعدى، نذكر منها:

١ - تركيز ايونات الايدروجين حيث إنه لايجب استخدام النهايات القصوى لرقم الأس الايدروجينى؛ حيث إنه من الثابت أن رقم الأس الايدروجينى أعلى من ١ - يؤدي إلى تحلل الروابط الفوسفوروى إثير، بينما عند رقم ٣ أو أقل فإن تحرر القواعد البيورينية يتم ببطء.

٢- تأثير الإنزيمات: الحمض النووى الرايبوزى وحيد السلسلة حساس لتأثير إنزيم الرايبونيكليز حيث إنه يكفى كسر فى جزئ الـ RNA، لكى يفقد قدرته على العدوى. ولذلك من الضرورى استبعاد تأثير الإنزيمات عند فصل الحمض النووى الفيروسى. وغالباً ما توجد آثار من إنزيم الرايبونيكليز فى التحضيرات المنقاة للفيروس، ويكون مصدرها أوراق النبات.

ومن الضرورى التخلص من هذه الآثار من المخضر الفيروسى، سواء عند التنقية أو عند استخلاص الحمض النووى، وهنا يمكن استخدام مشبطات إنزيم الرايبونيكليز، كما يمكن تقليل تأثير هذا الإنزيم بتوفير ظروف تقلل من نشاط الإنزيم إلى أدنى حد ممكن مثل درجات الحرارة المنخفضة (صفر - ٤م°)، ورقم الأس الايدروجينى المناسب، وكذا قوة الأيون.

٣ - فى عمليات المعادن، من الصعب التخلص من الكميات الثقيلة من إنزيم النيكليز،

ولذلك عند استخلاص الحمض النووي يجب أن يراعى استبعاد الطرق التي تحتاج إلى التحليل المائي طويل المدة، أو الطرق التي تحتاج إلى إعادة الترسيب من المحاليل المائية.

٤ - التأثيرات الهيدروديناميكية: لا تشكل هذه التأثيرات مشكلة بالنسبة للفيروسات الصغيرة، التي تحتوي على RNA وحيد السلسلة. بينما تكون أكثر تأثيراً على الفيروسات التي تحتوي على RNA ثنائي السلسلة.

٥ - القوة الأيونية: في المحاليل ذات القوة الأيونية الضعيفة، تركيب معقد الحمض النووي الرايبوزي وحيد السلسلة، ويصبح أكثر حساسية لتأثير إنزيم النيوكليز، الذي يوجد عند عملية الاستخلاص، وغالباً تستخلص الـ RNA في محاليل ٠.١ مول NaCl كلوريد الصوديوم.

٦ - تجهيز التحضير الفيروسي لاستخلاص الحمض النووي:

تمت المحاولات الأولى لاستخلاص الحمض النووي الفيروسي على فيروس تبرقش أوراق الدخان TMV حيث إن الحمض النووي لهذا الفيروس يوجد داخل غلاف بروتيني على درجة عالية من الثبات، بينما نجد أن الحمض النووي لأغلب الفيروسات الأخرى حتى داخل الجزيء الفيروسي غالباً ما يتعرض للتهدم، الذي يظهر بدرجات متفاوتة، مع فقد القدرة على العدوى.

وتعتمد الطريقة التقليدية لاستخلاص الحمض النووي الرايبوزي على استخدام الفينول، إلا إنه ظهر أن الفينول لا يعطي نتائج مرضية بالنسبة لعدد من الفيروسات، وعند التعرض لاستخلاص الحمض النووي من فيروس غير معروف من قبل، وبمقارنة عدة طرق بفرض اختيار أنسب هذه الطرق بالنسبة لهذا الفيروس، فيما يلي موجز لأهم هذه الطرق:

١ - المعاملة بالفينول:

ولقد استخدمت هذه الطريقة بواسطة جرير وشرام لاستخلاص الحمض النووي الرايبوزي المعدى من فيروس تبرقش أوراق الدخان TMV؛ حيث إن الفينول يحرر البروتين ويثبط إنزيم النيوكليز. وفي هذه الطريقة يتم خلط معلق الفيروس في محلول منظم عند pH حوالي ٧،

والذى يحتوى عدة مليميكروجرامات من الفيروس. فى كل ١ سم^٣ محلول يخلط مع حجم مساوٍ من محلول مشبع من الفينول فى الماء، ويتم فصل البروتين عن الحمض النووى باستخدام الطرد المركزى، وهنا يظل الحمض النووى فى السائل، ويمكن ترسيب الحمض النووى بعد ذلك بإضافة ضعف الحجم من الإيثانول، ثم يتم التخلص من آثار الفينول باستخدام الإيثانول، ثم يعاد التعليق فى محلول منظم، وتوجد عدة تحويلات لتلك الطريقة؛ حيث إن الطريقة التى تعتبر مناسبة لفيروس ما قد تكون عديمة الجدوى بالنسبة لفيروس آخر فعلى سبيل المثال وجد أنه عند استخلاص الحمض النووى من بعض الفيروسات، يجب استخدام طريقة الفينول ذات المرحلة الواحدة، التى تحتوى على فينول - إيثانول - ماء، أو فينول - مركب آخر للغسيل - ماء. وطريقة الفينول مفيدة عند العمل مع الكميات الضئيلة من الفيروسات؛ حيث إنه بهذه الطريقة يتم التغلب على فقد الحمض النووى فى طبقة البروتين، والذى يحدث عند استخدام طريقة الفينول ثنائى المرحلة.

الحمض النووى الرسول mRNA:

الفيروسات النباتية ذات الجينوم المكون من DNA تؤدي إلى ظهور نشاط الحمض النووى RNA الرسول أثناء عملية التضاعف فى الخلية، وهو الذى يساعد فى إنتاج البروتين الفيروسي Viral Coded Protein، أما الفيروسات النباتية ذات الجينوم RNA وحيد الحيط ssRNA يمكنها بذاتها أن تؤدي دور الحمض النووى الرسول mRNA، ولكن عديداً منها يؤدي إلى ظهور الحمض النووى الرسول، الذى يكون صغيراً Subgenomic mRNA أثناء عملية التضاعف. بالإضافة إلى ذلك فإن الإصابة بالفيروس إما أن تؤدي إلى تنشيط أو تثبيط الحمض النووى الرسول mRNA.

الفصل Isolation:

توجد طريقتان أساسيتان يمكن بهما فصل الحمض النووى الرسول mRNA من الخلايا. فى الطريقة الاولى يتم فصل محتوى الخلية من البولى رايبوزوم Polyribosome fraction، وهو الذى يحتوى على كل الحمض النووى الرسول mRNA، الذى يعمل حقيقة كرسول أثناء عملية الاستخلاص.

وفى الطريقة الثانية تعتمد على حقيقة أنه أغلب أو mRNA تملك قناة من المتبقيات ربما بطول ٣٠-٢٠٠ عند طرفها الثالث، وهذه يمكن إعادة الحصول عليها على عمود فصل ذى تتابع النمو (T) Oligo لتلتحم مع (A) poly و RNAs المغايرة فى التتابع تغسل خلال العمود.

النقل فى المعمل : *In Vitro translation*

توجد ثلاثة نظم واسعة الاستعمال لنقل الحمض النووى الرسول mRNA الخاص بذات النواة الحقيقية *Eukaryotic in Vitro* فى المعمل أو على الأقل تحت الظروف التى فيها يتم تمثيل أغلب أو كل البروتين بتوجيه من الحمض النووى الرسول mRNA.

والإطار العام لتطبيق هذه النظم يتم كما يلى :

١ - يتم تنقية الـ RNA أو mRNA المطلوبة على درجة عالية من النقاء باستخدام الطرد المركزى بتدرج الكثافة للفيروس *Density gradient Centrifugation*.

بينما يكون من الانسب استخدام البولى أكريلاميدجل إليكتروفوريسيس -Polyacrylamide gel electrophoresis بالنسبة للحمض النووى الرسول mRNA :

٢ - تتم إضافة الـ RNA إلى نظام تمثيل البروتين فى وجود الأحماض الأمينية؛ بحيث يكون واحد أو أكثر منها معلماً بالإشعاع.

٣ - بعد أن يتم حدوث التفاعل يتم تصنيف البوليبيبتيدات Polypeptide، باستخدام الإليكتروفوريسيس على (SDS) سلفات دوديسيل الصوديوم، وبولى أكريلاميد جيل مع markers معروفة الحجم.

٤ - يتم وضع المنتج على الجيل بواسطة *Incorporation of radioactivity*.

والنظم الثلاثة هى ما يلى :

١ - *The rabbit reticulate System*.

الخلايا التى تؤخذ من دم الأرانب بعد أن تصاب بالانيميا تغسل بالماء، ثم تعرض للطرد

المركزي، ثم يعاد استخدام المحلول المعلق.

وهذا يعتبر نموذجاً مفيداً وذلك لغياب نشاط إنزيم RANase .

٢ - Toad oocytes يتم حقن خلايا حبة لبيض Xenopus، أو Bufo بواسطة mRNA الفيروس، ويتم تخزينها في بيعة معلمة.

٣ - The Wheat Germ System : وفي هذا النظام يتم إضافة الـ RNA الفيروس في وجود معلم مناسب Label إلى معلق، يتم الحصول عليه من مستخلص أجنة القمح الذي أزيل منه الميتاكوندريات.

١- تهجين الأحماض النووية : Nucleic acid Hybridization

في الحمض النووي ثنائي السلسلة ds، يكون الخيطان مرتبطين ببعضهما برابوط أيدروجينية بين أزواج القواعد المتقابلة A:T و G:C بالنسبة للحمض النووي DNA و A:U، G:C بالنسبة للحمض النووي RNA، وحينما يسخن محلول الحمض النووي ثنائي الخيط، فإن الروابط الثانوية بين القواعد تنكسر، وتنفصل الخيوط عن بعضها، ويطلق على هذه العملية عملية الإذابة Melting أو التحلل Denaturation. وعند تخمين مخلوط الخيوط المنفصل على درجة حرارة منخفضة.. فإن الخيوط الثمانية يعاد بناؤها. يطلق على درجة الحرارة التي عندها يتم انفصال ٥٠٪ من الخيوط، اسم درجة الحرارة المذبية Melting temperature أو T_m . ويؤدي تحلل الأحماض النووية في التركيب الثاني إلى ارتفاع امتصاص المحلول عند ٢٦٠ نانومتر، وهذا يمكن استخدامه لتتبع التحلل واستقرار درجة الحرارة المذبية، وتتأثر درجة الحرارة المذبية T_m بعدة عوامل أهمها تركيب القواعد حيث ارتفاع المحتوى من G+C يؤدي إلى رفع درجة الحرارة المذبية، كما أن تركيز الأملاح يؤدي إلى ارتفاع الـ T_m ، كما يؤدي وجود العوامل التي تكسر الروابط الأيدروجينية مثل الفورماليد إلى خفض درجة الحرارة المذبية بالنسبة لأغلب الأحماض النووية RNA ثنائية الخيط، فإن درجة الحرارة المذبية في ٠,٣ مول كلوريد صوديوم تقع بين ٨٨ - ٩٣ م. وبالنسبة لاختبار التهجين يتم اختيار الظروف الحرارية بحيث تصل إلى أقصى حد ممكن

للتزاوج بين الخيوط الشقيقة، وقد وجد ان درجة حرارة ٦٥م هي الانسب بالنسبة لاجلب RNA الخاصة بفيروسات النباتات اى تكون اقل من درجة الحرارة المذيية بمقدار من ٢٣- ٢٨م. ويتم التهجين بين الأحماض النووية فقط تلك التى يكون التقابح النيوكليوتيدى متشابهاً. وتتوقف درجة التقابل حتى يتم التهجين بين نظامين مختلفين على درجة حرارة التفاعل، وهناك قاعدة لذلك حيث تنخفض درجة الحرارة بمقدار درجة واحدة لكل ١٪ من عدم التشابه بين الخيوط. وفي الغالب تستخدم درجة حرارة ٦٥م عند استخدام خيوط درجة تشابهها تتراوح بين ٧٢-٧٧٪.

ولذلك يمكن استخدام طريقة التهجين لتعرف مدى التشابه بين خيطين فرديين (S.S) من الأحماض النووية ويمكن أن يحدث التهجين إذا كان الحمضان النوويان فى صورة محلول أو عندما يكون أحدهما فى بيئة صلبة مثل أوراق أو أغشية النيتروسليلوز.

٢ - Gel Electrophoresis :

تعتبر طريقة الجيل اليكتروفورسيس طريقة مهمة لفصل وتحديد حجم مكونات الDNA.

فى هذه الطريقة يتم سريان تيار كهربائى بطول الجيل، وتوضع الجزيئات المشحونة فى السائل داخل ثقب فى الجيل، ويتوقف معدل هجرة جزيئات DNA إلى حد كبير على حجمها (الطول). وعلى ذلك فإن الجزيئات الأقصر من DNA بدرجة اقل أثناء مرورها فى الجيل، وعلى ذلك فإنها تتحرك أسرع من الجزيئات الأطول، ويمكن إمرار جزيئات مشعة ذات أطوال معروفه فى مجرى جيل واحد، حيث يمكن فصل مكون الDNA غير المهدم من الجيل. وهذا التكنيك له تطبيقات عديدة فى دراسة الجينوم الفيروسى والأحماض النووية على وجه العموم. وهناك أنواع مختلفة من الجيل تحتوى على الاجاروز أو البولى اكريلاميد يمكنها أن تحرر شق الأحماض النووية ذات الأحجام المختلفة، فعلى سبيل المثال.. فإنه باستخدام الجيل يمكن فصل من ٣٠٠ - ٥٠٠ جزء من حمض DNA وحيد الخيط مختلفة الأطوال فى حدود نيوكليتيده واحدة.

٣ - الخرائط المحددة Restricting maps :

الإنزيمات الداخلية المحددة Restriction endonucleases تعتبر إنزيمات موجودة في عدد من الأنواع البكتيرية . وظيفتها في هذه الخلايا أنها تكتشف وتهدم الـ DNA الغريب مثل ذلك الذى يأتى من الفيروسات المعديّة . ومن أهم خصائصها البيوكيميائية هي أن لها القدرة على اكتشاف الـ DNA فقط عند عدد محدد من النيوكليوتيدات غالبا ما يكون ٤ أو ٨ نيوكليوتيدات في الطول، ويطلق على هذه الخاصية اسم Recognition Sequences وتقوم البكتيريا بحماية الـ DNA الخاص بها بإضافة مجموعة الميثيل للقواعد . ولقد تم تمييز أكثر من ١٠٠ من الإنزيمات المحددة، التى تسمح بقطع الـ ds DNA في مواقع محددة مختلفة . وباستخدام الإنزيمات المحددة التى تسمح بقطع الجينوم الفيروسي في شكل الـ DNA، أمكن اتباع عديد من الأقسام ذات الأحجام المحددة، التى يمكن فصلها باستخدام جيل اليكتروفوريسيس، ويمكن عندئذ عمل الخريطة المحددة الخاصة بالجينوم موضحة مواقع كل قطع بالمقارنة بآخرين . ومثل هذه الخريطة التى تميز فيروس بعينه، يمكن استخدامها لإعطاء تصور تقريبي لدرجة تشابه جينوم الفيروسات المتقاربة .

٤ - استخدام DNA polymerase :

وكان لسهولة الحصول على هذا الإنزيم (pol 1) ومعرفة طريقة عمله الفضل في تطوير وظهور العديد من التكنيكات الجزيئية Molecular techniques بما في ذلك تعليم العينات وترتيب النيوكليوتيدات في الحمض النووي DNA .

وقد وجد إنزيم (Pol 1) في بكتريا *E. coli* وكذا تدخله في عملية تضاعف الـ DNA . وعند الأخذ في الاعتبار دراسة الجينوم الفيروسي، فإن أهم ما يميزه هو أنه يستقطب فقط deoxy nucleosade triphosphates (d NTPs)، وأنه يستطيع أن يفعل ذلك فقط عند نسخ فورمة الـ DNA . ولكى تبدأ عملية التضاعف لابد من وجود البادئ Primer، والبادئ عبارة عن hydrogen-bonded Oligonucleotide مع تزاوج القواعد مع الخيط الأساسى . ومجموعة الكربوكسيل الطرفية الثالثة لابد أن تكون قادرة على التفاعل مع dNTP القادم .

النوكليوتيدات لا تضاف إلى المجموعة الكربوكسيلية الخامسة الحرة، وعلى هذا يمكن القول بأن النمو الخيطي الجديد يبدأ من اتجاه ٥ إلى ٣، بالإضافة إلى ذلك فإن لدى pol 1 وظيفتين أخريين، أولهما: أن نشاط الإكسونوكليز يدخل في منع القواعد غير الصحيحة أثناء عملية نمو الخيط، وكذلك فإن للنشاط ٥-٣ إكسونوكليز الذى من وظائفه فى الخلية إزالة البادئات من RNA من الـ DNA كما أن نشاط هذا الإنزيم على الحمض النووى أحادى السلسلة يؤدي إلى كسر وإزالة النوكليوتيدة الخامسة، وعند إزالتها يمكن استبدالها بواسطة القدرة الاستقطابية للإنزيم. ويترك الكسر من ٥ إلى ٣ على طول اتجاه الخيط التمثيلي، وتعرف هذه العملية باسم Nick translation، وفى التجارب يتم الكسر فى الـ DNA باستخدام DNase بوضعه فى البيئة الخاصة، ولا يجب الخلط بين عمليتي Nick trans والـ Translation؛ حيث إن الأخيرة هى العملية التى تقوم بها الريبوسومات والعوائل الأخرى لتمثيل البروتين فى الخلية تحت تأثير mRNA.

٥ - الأحماض النووية المعلقة Labeled nucleic acid probes :

تم استخدام سلسلة من الأحماض النووية المعلقة إشعاعياً فى عديد من الطرق لدراسة الجينوم الفيروسي، وعملية تضاعف الفيروسات. والحمض النووى المشعة من الممكن أن يكون DNA أو RNA ويمكن معالجة الحمض النووى بعدة وسائل. وفيما يلى أهم الطرق التى يشجع استخدامها لذلك الغرض.

أ - تعليم النهاية End-Labeling :

حيث إن إنزيم Polynucleotide Kinase وجد فى أنواع كثيرة من الخلايا التى تساعد على نقل (ألفا) فوسفور من الاديونوزين ترائى فوسفات (ATP) إلى المجموعة الكربوكسيلية الخامسة عند النهاية رقم ٥ لجزئى DNA أو RNA ذات الأطوال المختلفة. فإذا ما تم تعليم الـ ATP بواسطة الفوسفور المشع ٣٢ فى الوضع ألفا، فإن ذلك سينتقل إلى مجموعة الكربوكسيلة الخامسة لبولى نيوكليوتيدة، وبذا يتم تعليم النوكليوتيدة الخامسة من الجزئ. وإذا كان الفوسفات موجوداً أصلاً فى المجموعة الخامسة، فإن لا بد من تحريره قبل عملية التعليم باستخدام إنزيم Alkaline phosphatase حتى يمكن تحرير المجموعة الكربوكسيلية

ب - طريقة Nick translation (النقل بالعلامة) :

وهى طريقة شائعة لتعليم الـ DNA؛ حيث يستخدم dNTPs المشع، وذلك بإضافته إلى المخلوط الذى يحتوى على الحمض النووى مع تشجيع نمو خيط الحمض النووى باستخدام DNA pol 1 وذلك للحصول على عينة مشعة.

ج - طريقة Random priming (التكوين العشوائى للبادئ) :

وتتضمن هذه الطريقة استخدام مخلوط من نيوكليوتيدات عشوائية على الـ DNA وحيد السلسلة أو الـ RNA وحيد السلسلة، والتي يتم نسخها فى المعمل *in vitro* مع DNA pol- ymerase أو باستخدام Radioactive dNTPs.

د - طريقة Strand - Specific probes المعينات المميزة للخيوط :

وفى هذه الطريقة أيضاً يتم تمثيل الأحماض النووية *in Vitro* من الـ dNTPs المشع، وفى أغلب الأغراض يستخدم الـ DNA المعتمد على RNA polymerase (على سبيل المثال من T7 أو Sp6 بكتيريوفاج) ويستخدم الإنزيم لتمثيل الـ RNA المشع ليعطى نسخة من DNA الذى ينمو مساوياً لذلك، الذى يستخلص من بكتيريوفاج Sp6 أو T7، وفى هذه الطريقة من الممكن تمثيل أو تعليم خيط واحد من الحمض النووى.

٦ - طريقة تازرن Southern Blotting :

وقد سميت هذه الطريقة باسم E.M. Southern الذى ابتكر هذه الطريقة؛ حيث يتم فصل جزيئات DNA فى آجاروز جيل فى صورة حزم محددة باستخدام الأليكتروفوريسيس.

ثم بعد ذلك يوضع الجيل فوق غشاء من النيترو سيليلوز أو النايلون. ثم يعامل بصب محلول منظم مناسب مواز لاتجاه الإليكتروفوريسيس وفى اتجاه الغشاء. وعملية الـ Blotting تؤدى إلى نقل الـ DNA بطريقة الاسموزية إلى الغشاء، حيث ترتبط مكونة تكرارية لحزم الـ DNA فى الجيل. كما يمكن بعدئذ تعريض عينة مشعة أو معلمة على المرشح، وحينئذ يتم

ارتباط الـ DNA ذى الترتيب النيوكليتيدي المشابه مع العينة المشعة. ثم عن طريق التصوير الاوتوراديوجرافي للغشاء يمكن تمييز أى حزم الـ DNA مطابقة لتلك الحزم الموجودة فى العينة، ثم يمكن تقدير أو تقييم حجم الـ DNA فى الحزم المهجنة باستخدام Marker مناسب .

٧ - طريقة Northern Blotting :

وهو تكنيك مشابه للطريقة السابقة، استحدث للاستخدام بالنسبة للحمض النووى الريبوزى RNA، واطلق عليه هذا الاسم للتمييز بينه وبين الطريقة السابقة-Southern blotting. وفى هذه الحالة يتم فصل مخلوط الـ RNA الخاص بالفيروس أو الخلية أو كليهما معاً، على أساس الحجم باستخدام اجاروز جيل إليكتروفورييس عاده تحت ظروف، لا تسمح أو تمنع تكوين قواعد ازدواجية داخل الخيوط، والتي تؤدي إلى تكوين انحناءات فى الـ RNA.

وكما يحدث مع الـ DNA يتم تجمع الجيل على أغشية من النايلون أو النيتروسيلولوز التى تقوم بالإمساك بالـ RNA. ثم يتم تعريض الغشاء بعد ذلك لمحلول يحتوى على العينة المشعة، ثم بطريقة التصوير الاوتوراديوجرافي، يمكن تمييز أى حزم الـ RNA المشابهة للعينة المشعة، وكذلك يمكن تقدير حجمها باستخدام markers فى الجيل .

٨ - طريقة التهجين فى الموقع In Site Hybridization :

فى العادة تتضاعف الفيروسات، وتتجمع فى مواقع محددة داخل الخلايا المصابة. ويمكن تحت ظروف مناسبة يمكن استخدام الـ RNA أو الـ DNA المشع للتهجين مع الحمض النووى للجينوم الفيروسي أو الـ RNA أو الرسول mRNA الموجود فى قطاعات دقيقة للخلايا المصابة.

ويمكن تحديد مواقع التهجين باستخدام التصوير الراديواوتوجرافي، ولو تم التعليم بصيغات فلوريسنتية فيمكن استخدام الميكروسكوب .

٩ - تحديد ترتيب النيوكلييدات فى الـ DNA :

معرفة ترتيب وتعاقب النيوكلييدات فى الجينوم الفيروسي تعتبر أساساً لفهم التركيب البنائى وتضاعف الجينوم وكذا علاقته بالفيروسات الأخرى، ولذلك تستخدم الطرق التالية :

١ - Restriction Endonucleases :

من أهم خصائص تلك الإنزيمات هي أن بعضها لا تؤدي إلى القطع المستقيم، ولكنها تقوم بقطع متعدد في كل سلسلة عند مواقع عدد قليل من النيوكليوتيدات متباعدة، وهي القطع المختلفة التي تترك نهايات قصيرة وحيدة الخيط على جانبي كل قطعة. ويطلق على هذه النهايات اسم النهايات المتماسكة أو اللاصقة Cohesive ends لأن لها القدرة على التهجين، لتكون زوجاً من القواعد الشقيقة مع نهايات أى جزء DNA آخر التي يتم قطعها بنفس تلك الإنزيمات Restriction nuclease .

ب - DNA Ligase :

حينما تلتصق نهايتان من جزيئات DNA التي تم قطعها بواسطة الإنزيم القاطع Restriction بواسطة القواعد المزدوجة فإن النهايات يمكن تحريرها بواسطة إنزيم يسمى DNA Ligase الذي يكون قاعدة فوسفودايتراى بين نهايتى الحامضين النووين DNA .

ج - DNA Cloning تجمع الـ DNA (كلونة) :

ولتحديد ترتيب النيوكليوتيدات أو لإجراء عمليات أخرى على الـ DNA المنتج بواسطة الإنزيمات القاطعة، من الضروري أن نكون قادرين على تكبير كميات هذه المشتقات، وهذا يمكن إجراؤه بإدخال الـ DNA فى بلازميد أو بكتيريوفاج، وبعد ذلك تنميتها فى البكتريا أو الخميرة. والبلازميد عبارة عن جزيئات DNA ثنائى السلسلة ds DNA صغيرة الحجم ومستديرة توجد طبيعياً فى البكتريا والخميرة وتتضاعف داخل العائل. والـ DNA الخاص بالبلازميد أصغر بكثير عن الـ DNA الخاص بالبكتريا، ولذا يمكن فصله بسهولة منها. وحينما تستخدم البلازميدات كناقلات فنستخدم أجزاء من الـ DNA الفيرس؛ حيث يتم إدخالها إلى الـ DNA البلازميد.

ثم يتم إدخال جزيئات هجين الـ DNA البلازميدى إلى البكتريا العائل، ثم تترك المستعمرة البكتيرية لتنمو على بيئة صناعية. والبعض فقط من هذه المستعمرات يحتوى على الـ DNA الفيرس المطلوب. ويتم انتخاب تلك المستعمرات التى تحتوى على الـ DNA

يحقن الـ DNA الخاص بالبلازميد المستخدم بجين المقاومة للمضادات الحيوية، غالباً الأمبيسلين والبلازميد أيضاً يحتوى على جين يسمح بتخمير اللاكتوز . وتوجد الإنزيمات القاطعة لـ DNA مع هذا الجين . وحينما تدخل جزيئات الـ DNA الخاصة بالبلازميد إلى البكتريا فإن الأخيرة يتم تنميتها على بيئة تحتوى على المضاد الحيوى، وعلى نسبة من اللاكتوز مما يعطى لوناً أزرق عند التخمر . وهنا فإن الخلايا المقاومة للمضاد الحيوى، وتحتوى على البلازميد هي وحدها، التى يكون لها القدرة على النمو لتكون مستعمرة ومعظم هذه الخلايا قد لا تحتوى على الـ DNA المطلوب، وهنا تعطى لوناً أزرق . بينما تكون أى مستعمرة بيضاء تحتوى على جين إنزيم اللاكتوز فقدت حيويتها بإدخال الـ DNA المطلوب .

وأكثر البلازميدات شيوعاً فى الاستخدام، هو للأمين PBR 322 يحتوى على جين المقاومة للأمبيسلين والتراتاسيكلين . ومواقع عديدة تخص الإنزيمات القاطعة Restr. nucleases تقع خلال هذه الجينات .

وحينما تدخل قطعة من DNA غريب داخل أحد هذه الجينات، فإن هذا الجين يفقد نشاطه، وحينما يتم إدخال البلازميد إلى البكتريا العائل يمكن حينئذ تعرف المستعمرات المقاومة لأحد المضادات الحيوية والحساسية لمضادات أخرى . والمستعمرات التى تحتوى على الـ DNA الغريب المطلوب تنميتها فى بيئة كثيفة، ويتضاعف البلازميد مع نمو خلايا البكتريا العائل، ثم يتم تنقية الـ DNA الخاص بالبلازميد . ثم يمكن فصل نسخ من الـ DNA الأصل من البلازميد، وذلك بالمعاملة ثنائية بواسطة Restr. nuclease المستخدم فى حقن الجزيء .

وهناك بعض البكتريوفاجات التى يمكن استخدامها بدلاً من البلازميد لحمل جزء من الـ DNA الغريب إلى داخل الخلية البكتيرية، مثل فاج ١١٣ الذى يصب *E.coli* الذى يفيد فى إكثار الـ DNA لاستخدامه فى طريقة Sanger dideoxy sequence؛ حيث إن الفاج يسمح بتكوين قالب من الـ DNA وحيد السلسلة .

تحديد تتابع النيوكليوتيدات في الـ DNA لجينوم الفيروس:

لقد ظهرت طريقتان أساسيتان لتحديد التتابع في النيوكليوتيدات في الـ DNA أولهما طريقة ماكسام وجلبيرت Maxam and Gilbert، التي تتضمن استخدام تحضير مشع من الـ DNA عند النهاية الخامسة، ثم تقسيم المحضر إلى أربع عينات.

ثم تعامل كل عينة على حدة بلطف بمركب كيميائي، والذي يتخصص في تحطيم نوع واحد من القواعد. مثل G أو نوعين من القواعد مثل C و T، ولكن في موقع واحد أو مواقع قليلة بتلك القاعدة في أي جزء يتم دراسة مخلوط من جزيئات الـ DNA حيث يحتوي كل جزء على نوع خاص من القواعد، التي تتأثر في موقع واحد، وتعامل كيميائياً حيث يمكن إزالة تلك القاعدة. ثم تفصل الأجزاء المشعة بواسطة جيل إليكتروفوريسيس، وهنا يمكن تحديد ترتيب النيوكليوتيدات من الصورة التي تظهر بها الحزم في الجيل.

أما الطريقة الثانية فقد اكتشفت بواسطة فرد سانجر Fred Sanger، وتعرف بطريقة سلسلة dideoxy. وتعتبر الآن هذه الطريقة هي الطريقة المفضلة لتحديد تتابع النيوكليوتيدات في الحمض النووي الفيروسي، وأساس هذه الطريقة هو أن nucleoside tri-phosphate يحتوي على البننوز Pentose تفتقر إلى مجموع الأيدروكسيل على كل من الموضعين ٢، ٣ (a dideoxy nucleotide) ولذلك لا تتمكن من تكوين حزمة Phospho-dist مع النيوكليوتيد التي تضاف إلى السلسلة النامية في الاتجاه الثالث. ولذلك فإن تحديد وضع الـ dideoxy nucleotide في السلسلة النامية يحدد اتساع تلك السلسلة.

الباب الثالث

سلالات فيروسات النبات

Plant Virus Strains

سلالات فيروسات النبات

PLANT VIRUS STRAINS

للفيروس - مثل جميع الكائنات - خاصية التوارث، ويؤكد ذلك نجاح الفيروسات في المحافظة على صفات وأشكال الأمراض الفيروسية خلال فترة طويلة من التاريخ. فمثلاً فيروس موزايك التبليوب الذى يسبب زركشة خاصة على بتلات الأزهار وينتشر بكثرة فى الوقت الحاضر - وجد مرسوماً بأيدي أحد الهولنديين فى القرن السادس عشر، Daniel Rabel. 1575 ويرتبط ثبات الصفات الخاصة بالفيروس إلى حد ما بثبات ظروف معيشتها؛ فزراعة التبليوب فى هولندا معروفة منذ زمن بعيد، ولم يطرأ على أسس زراعته تغير كبير إذ إن بيولوجى هذا النبات لم يتعرض لآى تغيير جذرى فى مدة الأربع قرون الماضية.

ويعتبر الفيروس أكثر مسببات الأمراض قابلية للتغيير، وهذا الاستعداد لسرعة التغيير هو نتيجة لتكوينه البسيط نسبياً ولسرعة تضاعفه واختلافه الكبير فى طريقة معيشتة عن باقى المسببات المرضية. وتعطى هذه الصفة للفيروس خاصية إصابة عدد كبير من العوائل، فيمكن القول بأن فيروس موزايك الخيار رقم ١/ ينجح فى عدوى نباتات ١٩١ جنساً تمثل ٤٠ عائلة، وفيروس موزايك الدخان TMV يصيب ٢٣٦ جنساً تتبع ٣٣ عائلة، كما أن فيروس نيكروزيس الدخان TNV له عدد كبير من العوائل ذات الفلقتين، ومن ذات الفلقة الواحدة. ويكون نتيجة لهذا أن تظهر لمعظم الفيروسات النباتية المدروسة سلالات مختلفة.

وقد بدأ باحثو الفيروسات النباتية منذ سنة ١٩٢٥ فى ملاحظة الاختلافات بين السلالات الفيروسية. وكان ماكينى 1926 McKinney أول من تمكن من فصل سلالة الموزايك الأصفر Yellow mosaic، عن الطراز العادى لفيروس موزايك الدخان، إذ قام بحقن ٤٠٠ نبت دخان بفيروس الموزايك العادى وحفظها على درجة ٢٥°م، ولاحظ بعد ٣-٦ أسابيع ظهور مناطق صفراء، دقيقة، يتراوح قطرها بين ١-٥ ملليمتر على الأوراق المحقونة لاربعة نباتات فقط. ثم قام ماكينى McKinney بإجراء مزيد من البحث على هذه

السلالة الجديدة، توصل من خلال إلى حقيقتين مهمتين، هما:

الأولى: ظهور البقع الصفراء على نباتات الدخان المحقونة بفيروس موزايك الدخان العادى، يكون بدرجة أكثر وضوحاً عند استخدام عصير مخفف من الفيروس العادى .
الثانية: وجد أن تركيز السلالة الجديدة الصفراء يكون مرتفعاً جداً فى المناطق الصفراء، ويقل فى الأنسجة المحيطة بها .

ثم أعاد عمليات العزل والتنقية عدة مرات؛ حتى تمكن من الحصول على سلالة الموزايك الأصفر Yellow mosaic من الموزايك العادى للدخان .

وقد فسر ماكينى Mckinney أن هذه السلالة الجديدة قد نشأت من فيروس موزايك الدخان العادى؛ نتيجة لحدوث طفرة فى إحدى جزيئات الفيروس الأصلية، وقد تمكن بعد ذلك من عزل بقية السلالات، والتي قال عنها بأنها كلها نشأت نتيجة حدوث طفرات للفيروس، وتمكن العالم Koch, 1933 من عزل سلالتين جديدتين من فيروس موزايك البطاطس، أطلق على إحدهما التبقع الحلقي Potato Ring spot virus والآخرى سلالة التبقع Mottle virus . وقد تمكن هذا العالم من عزل هذه السلالات والتمييز بينها وبين سلالة تمزج العروق Potato vein Banding .

كما تمكن Price (١٩٣٤) من عزل سلالة جديدة لفيروس موزايك الخيار، تعطى مناطق صفراء لامعة على نباتات الدخان المصابة، وقد تمكن من الحصول على هذه السلالة بإجراء عديد من التمريرات للفيروس الأصلى خلال نبات الفاصوليا، وفى النهاية أمكنه الحصول على سلالة جديدة لا تعطى نقطاً محلية فقط، ولكنها تتيج بإصابة عامة على عكس الفيروس الأصلى، والذى يعطى على نبات الفاصوليا نقطاً محلية فقط .

وقد تمكن Price بعد ذلك من عزل ٧١ سلالة أخرى من موزايك الخيار، ووجد أدلة كثيرة تشير إلى حدوث الطفرة كعامل مهم فى الفيروسات النباتية، تحدث داخل العائل المصاب فقط .

وفى عام ١٩٣٧ تمكن جنسن Jensen من عزل ١٢ سلالة لفيروس موزايك الدخان

العادى، وذلك بعد أن قام بإجراء عديد من عمليات العزل، التى وصل عددها إلى ٥٥ عزلاً، وفسر جنسن Jensen نشوء هذه السلالات نتيجة حدوث طفرات للفيروس الاصلى.

وبقدوم عام ١٩٤٠ أجمعت النتائج التى توصل إليها العلماء على أن السلالات الفيروسية تنشأ من الفيروس الاصلى نتيجة حدوث طفرات.

ثم تفتح المجال بعد ذلك، واتسعت آفاقه، وظهر الكثير من الحقائق عن السلالات الفيروسية فى النباتات.

وفى عام ١٩٥٥ تمكن لارسون وآخرون Larson et al, 1955 من إحداث طفرة فى فيروس موزايك البطاطس (X)، وذلك نتيجة لتعرض النباتات المصابة إلى بخار Nitrogen mustard وهذا معروف أنه عامل مولد للطفرات.

وتمكن فرانكل كونرات Frankel Conrnat وآخرون ابتداء من عام ١٩٥٦ من إحداث طفرات فى فيروس موزايك الدخان (التبغ) TMV.

الاختلافات الطبيعية والكيمائية بين سلالات فيروس الدخان:

ترتكز الصفات البيولوجية للسلالات الفيروسية على تغيير فى الخواص الطبيعية الأساسية وفى التركيب الكيمائى لها.

وبنيت التفرقة قديماً على الفروق فى مظهر الإصابة وبعض الخواص الطبيعية الأخرى، فقد فرق McKinney 1926 سلالة الموزايك الأصفر عن الفيروس الاصلى لموزايك الدخان بما تسببه من مظهر لمناطق صفراء على الأوراق المحقونة. إلا أن Koch, 1933 فرق بين سلالتى التبغ الحلقي والتبغ العادى وسلالة تحزم العروق فى البطاطس بمظهر الإصابة الخارجى وبالنقل الحشرى؛ إذ وجد أن السلالتين الأوليين لا تنتقلان بواسطة المن، بينما تمكن من نقل السلالة الثالثة (تحزم العروق) فى البطاطس بواسطة نوعين من المن، *Myzus persicae*، كذلك فرق بينهما بالخواص الطبيعية ومقاومتهما لبعض المواد الكيمائية وبسرعة انتقالهما من مكان الحقن إلى قمة النبات.

ووجد Price, 1954 فى دراسة معملية مقارنة لحوالى ٣٥ سلالة لفيروس موزايك الدخان

TMV والفيروس الأصلي اختلافات في النقط التالية:

- ١ - القدرة على تكوين المناطق الصفراء على الدخان التركي .
 - ٢ - القدرة على تكوين نقط محلية (حساسية الاصناف) على *N. sylvestris* .
 - ٣ - إنتاج النقط الحلقيّة على الدخان التركي .
 - ٤ - القدرة على إصابة الفاصوليا *Phaseolus vulgaris* .
 - ٥ - إنتاج نقط محلية كبيرة على *N. glutinosa* .
 - ٦ - إنتاج أوراق صغيرة على الدخان التركي .
- أى الاختلافات فى مظهر الإصابة - كما وجد أن مورفولوجى الفيروس يتغير قليلاً .
- كما لوحظ أن بعض سلاسلات فيروس موزايك الدخان تختلف فى سرعة حركتها فى الصبغات أثناء عملية فصل التحضيرات الفيروسية من عصير النبات .
- وظهرت درجات حرارة مميتة بالنسبة لبعض سلالات فيروس X البطاطس تختلف عن درجة الحرارة المميتة بالنسبة للفيروس الأصلي .
- ولوحظ أيضاً أن فيروس X البطاطس يختلف اختلافاً بسيطاً فى مقاومته لعمل إنزيم التريسين عن بعض سلالاته، بينما يوجد فرق مؤكد فى طول الجزيء بين الفيروس وسلالاته .
- وكتب Knight, 1954 يقول إنه على الرغم من طرق التحليل المحدودة فإنه بناء على تحليل ١٣ سلالة لفيروس موزايك الدخان، يمكن استخلاص الآتى :
- ١ - يصحب الطفرات للفيروس اختلافات مؤكدة فى تركيب البروتين، وهذه الاختلافات تحدث عامة فى نسبة الأحماض الأمينية الموجودة، ويمكن أن تحدث الاختلافات أيضاً فى الشكل Type لأن إحدى سلالات الفيروس Rib grass strain وجد أنها تحتوى على حامضين أميين هيسثيدين ومثيونين Histidine and Methionine ، وهما لا يوجدان بتاتاً فى سبع من السلالات الأخرى .
 - ٢ - وجد أن السلالات المتقاربة فى أصلها أكثر تشابهاً فى تركيبها .

٣ - الخلاف فى تركيب البروتين بين السلالات لا تحدده أحماض أمينية محددة بالذات، حيث وجد أن ١٣ سلالة من موزايك الدخان تحتوى على ١٥ حامضاً أمينياً من الثمانية عشرة.

ويظهر أن الأحماض الأمينية، السيستين والليوسين والبرولين Cysteine & Leucine and Proline هى الثابتة بالنسبة لجميع السلالات.

ولم ينجح فى عمل علاقة بين التغير ومظاهر الإصابة التى تنتج عن هذه أو تلك السلالة. فمثلاً سلالة B₄ تظهر على الدخان مظاهر إصابة يصعب تفريقها عما تظهره السلالة الأصلية TMV ولكن يظهر اختلاف كيمائى ملحوظ فى محتويات الثريونين Therionine والفالين Valine وحامض الاسباراجين Asparagin.

ومن ناحية أخرى فإنه بين سلالة S₁, S₂ اختلاف واضح فى مظاهر الإصابة، علماً بأنه لم يلاحظ خلاف يذكر فى الأحماض الأمينية.

ولخص كونكل Kunkel الخواص التى يمكن عن طريقها التمييز بين السلالات الفيروسية فى ١٩ خطوة، وهى:

الأعراض، شدة المرض، القدرة على الإصابة، مدة البقاء قادرة على الإصابة، درجة التخفيف النهائية، درجة الحرارة المثبطة للفيروس، كمية ونوع الأحماض الأمينية، المدى الحرارى لتضاعف الفيروس، سرعة الحركة فى أنسجة العائل، ومدى تحولها إلى إصابة جهازية، نوع البقع المحلية الأولية والثانوية، التوزيع الجغرافى، مدى الانتشار، التأثير على كمية الفيروس فى العائل، المدى العوائلى، الناقل الحشرى المختص، مدى حدوث الطفرات والتفاعل السيولوجى.

نشوء السلالات (الطفرات)

لقد اقترحت عدة نظريات عن تضاعف الفيروس وتكوين الطفرات، إلا أن أحداً منها لم تثبت صحته، كما لم تمثل إحداها الكلمة الأخيرة فى ذلك الموضوع، ولكن هناك نظرية واحدة من السهل تصورها، وهى نظرية Triplate theory.

وتفترض هذه النظرية أن مجموعة من النيوكليوتيدات مكونة من ثلاث قواعد، يمكنها

العمل على إنتاج حمض أميني واحد، وبذلك يمكن أن تكون هناك ٦٤ شفرة، كل منها يتكون من ٣ حروف كالاتي:

AAA	TAA	GAA	GAA
AAT	TAT	GAT	CAT
AAG	TAG	GAC	CAG
AAC	TAC	GAC	CAG
ATA	TTA	GTA	CTA
ATT	TTA	GTT	CTT
ATG	TTG	GTG	CTG
ATC	TGA	GGA	CGA
AGT	TGT	GGT	CGT
AGG	TGG	GGG	CGT
AGC	TGC	GGC	CGG
ACA	TCA	GCA	CCA
ACT	TCT	GCT	CCT
ACG	TCG	GCG	CCG
ACC	TCC	GCG	CCC

Nucleotide Sequences of RNA Codons and Corresponding Amino Acids

ترتيب نيوكليوتيدات حمض RNA والأحماض الأمينية

1st Base	2nd Base				3rd Base
	U	C	A	G	
U Leu	phe	Ser	Tyr	Cys	U
	phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Ochre	**	A
	Ser	Amber	Trip	G	
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Keu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	LLeu	Thr	Asn	Ser	U
	LLeu	Thr	Asn	Ser	C
	LLeu	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

From Crick. Cold Spring Harbor Symposia 31.1: 1966.

وبناء على ذلك وضع ما يعرف بقاموس، أمكن بواسطته أن يترجم لحمض النوروى ذو الأربع قواعد إلى لغة ذات عشرين حرفاً، وهى الأحماض الأمينية أى إن الشفرة التى ينشأ عنها حمض أميني واحد هى عبارة عن قالب Triplate مكون من ٣ قواعد يسمى أيضاً Codon.

ويبين القاموس التالى ترتيب القواعد الثلاث والأحماض الأمينية المقابلة لكل شفرة.

قاموس الشفرة الثلاثية

Three latter genetic cod-word dictionary Sigel et al, 1965.

Amino acid	RNA	Code words		
Alanine	CCG	UCG*	UCG*	
Arginine	CGC	AGA		
Asparagine	ACA	AUA		
Aspartic acid	GUA			
Cysteine	UUG*			
Glutamic acid	GAA	AGU*		
Glutamine	ACA	AGA	AGU*	
Glycine	UGG	AGG		
Histidine	ACC			
Isoleucine	UAU	UAA		
Leucine	UUG	UNG	UNA	umu ^(a)
Lysine	AAA	AAG*	AAU	
Methionine	IGA*			
Phenylalanine	UUU			
Proline	CCC	CCU*	CCA*	CCG*
Serine	UCU	UCC	UGG'	
Therionine	CAC	CAA		
Tryptophan	GGU			
Tyrosine	AUU			
VaLine	UGU			

* Un Certain whether code is uAG or GGU

** Nred for u uncertain

(a) Codes preferentially for phenylalanine

• Need for G and U uncertain

o Need for uAG uncertain

من هذا يتضح كيف أن مجموعة بسيطة من ثلاث نيوكليوتيدات تقرر نوع الحمض الأميني المتكون. وإذا تصورنا أن خيط الحمض النووي مكون من ٦٥٠٠ نيوكليوتيدة، يمكننا أن نستنتج كم نوع من البروتين يمكن تكوينه بارتباط عدد من الأحماض النووية.

وقد يكون أحد هذه البروتينات إنزيمًا ضروريًا لإنتاج زيادة من حمض النواة، والآخر ربما يكون هو البروتين الذي سيعطى حمض النواة ويكون جزيئًا جديدًا من الفيروس.

ومن ذلك أيضًا يمكن التنبؤ بأن أي تغير في وجود أي قاعدة بسلسلة الحمض النووي سيؤدي إلى انحراف Complementary deviation (طفرة mutation) في ترتيب الأحماض الأمينية للبروتين المقابل، ويمكن أن تحدث مثل هذه الطفرات في الحالات التالية:

١ - إذا ما حلت قاعدة محل أخرى، أي تغيير في وضع الـ Code- Triplate sequences.

٢ - إذا أضيفت قاعدة أو أخذت، من سلسلة الحمض النووي.

وحديثًا أمكن تغيير طبيعة النيوكليوتيد كيميائيًا، وكانت هناك حالة مثيرة لبساطتها، وهي عبارة عن استبدال مجموعة أمين ن يده بمجموعة أيدروكسيل (أيد) في قاعدة، حيث أجرى Frankel-Conrat تجربة استعمل فيها حمض النتروز Nitrous acid؛ إذ بواسطته تمكن من طرد مجموعة الأمين من السيتوزين وإحلال مجموعة الأيدروكسيل محلها، وبذلك أصبح الموجود اليوراسيل بدلاً من السيتوزين، وهذا يعتبر تغييراً في نيوكليوتيدة واحدة.

وإذا افترضنا إضافة كمية قليلة من حمض Nitrous acid إلى جزيء حمض النواة في فيروس موزايك الدخان بكل احتراس، فإن واحداً أو اثنين من السيتوزين واليوراسيل يمكن إدخالهما في الجزيء.

وإذا تصورنا أن جزيء حمض النواة في فيروس موزايك الدخان يتكون من ٦٥٠٠ نيوكليوتيدة. وأن هذا التغيير يتم في مجموعة واحدة Triplate مثل GAC والتي تصبح GAU. وعلى هذا فعندما يترجم هذا إلى ما يقابله من بروتين بناء على القاموس النظري، فلا يلاحظ وجود الحمض الأميني بروبين Proline، ولكن يوجد بدلاً عنه حمض ليوسين

Leusine حيث إن GAU هي أساس لليوسين. وبذلك يتغير الشكل المميز لنيوكليوتيدة واحدة، وبذلك فإنه يمكننا التحكم فى إنتاج البروتين الذى يحتوى على ليوسين فى مكان منه، حيث كان يوجد البرولين وبعبارة أخرى يمكن إنتاج طفرة للفيروس .

وهذا ما أجراه فعلاً فرانكل - كونرات Fraenkel - Conrat وآخرون، حيث عزلوا حمض النواة للفيروس موزايك الدخان، وعاملوه بحمض النيتروز Nitrous، وجعلوا حمض النواة المتغير يكون غلاًفاً جديداً من البروتين.

إلا أنه ليس من السهل عملياً إنتاج طفرة فيها نيوكليوتيدة واحدة من ٦٥٠٠ متغير، إلا أن الذى حدث فعلاً هي حالة فيها حوالى أربعة متغيرات فى كل السلسلة، ومن ثم فقد أكدت هذه الدراسة حدوث كثير من الطفرات.

ومن هذه التغيرات امكن تغيير أو استبدال البرولين بالليوسين، وتطبيقاً لهذا فإنه من المعروف أن فيروس موزايك الدخان يحتوى على برولين قرب الطرف، وأن وجود البرولين فى هذا المكان يجعل الفيروس أكثر مقاومة لإنزيمات النبات التى ربما تثبط من نشاطه. ولهذا يمكن أن يلاحظ عند عمل تغير دقيق كيميائى فى حمض النواة للفيروس TMV تخلق سلالة أخرى للفيروس، التى تتميز بكونها أقل ثباتاً less stable من الفيروس الاصلى.

العوامل التى تؤدي إلى تغيير الفيروس - أو إلى إنتاج سلالات فيروسية:

١ - تغير الفيروس أثناء مروره خلال جسم عائله:

إنتاج الفيروس يتم داخل خلايا العائل، وبالتبعية فإن الوسط الذى يعيش فيه الفيروس يتغير من عائل لآخر. وفى خلايا النباتات التى تتبع بعض الأجناس فإن الفيروس يقابل ظروفًا تجعله يتغير. ويأخذ هذا التغير مظاهر عدة، منها:

أ - تغير الفيروس الذى يسبب إصابة محلية فتصبح إصابة عامة:

فمثلاً فيروس موزايك الخيار / ١ فى مروره الأول بنبات اللوبيا *Vigna sinensis* يسبب نقطاً محلية، وفى ثامن أو عاشر تمريرة بواسطة النقط المحلية يظهر على الأوراق بقع صفراء، حيث تحتفظ الخلايا بحيويتها، ويتبع هذا مرض عام قد يأتى على حياة النبات. وإذا استمر

فى التمرير فإن الفيروس يتعرض إلى تغير يقلل من درجة تأثيره وأن المرض يصبح موزايك خفيف أقل ضرراً (Price, 1934)، وهذا التغيير مرتبط بتأقلم adaptation الفيروس نحو العائل الجديد .

ب - يظهر التغير بوضوح إذا ما استعمل سلالة قوية Virulent :

فمثلاً بتمرير السلالة العادية من TMV خلال نبات *N. glauca* أو خلال *N. sylvestris* تتعرض للتغير معطية فى الأول سلالة جديدة أكثر شدة (Coxov & Vovk, 1959) more virulent وبعد حقن أوراق *N. glutinosa* بالفيروس بعد التمرير السابق فإنه يعطى نقطاً محلية (نيكروز) كبيرة وتأثيرها قوى، وذات قطر ٣-٤ مرات أكبر مما يعطيه الفيروس قبل تمريره .

ج - ربما يفقد الفيروس صفة تطفله على العائل الأصلي :

إذا ما مرر فى عوائل جديدة : فمثلاً الاستمرار فى تمرير فيروس X البطاطس فى نباتات الدخان يؤدى إلى أن يفقد الفيروس قدرته على إصابة عائله الأول وهو البطاطس . وقد وجد Matthews, 1949 أن تكاثر بعض سلالات هذا الفيروس فى نباتات الدخان لمدة ١٨ شهراً قلل درجة إصابتها للبطاطس، وأن تكاثرها لمدة ٣٠ شهراً يفقدها نهائياً صفة إصابة البطاطس . ولقد حصل أيضاً Black, 1953 على تأكيد النتائج السابقة بالنسبة لبعض سلالات فيروس اصفرار وتقزم البطاطس، فوجد أن هذا الفيروس ينتشر فى الطبيعة بواسطة حشرة Cicadae، ويتضاعف أيضاً فى جسمها كتكاثره فى عائله النباتى، واثبت بالتجربة أن زراعة سلالة واحدة لمدة ١٢ عاماً وأخرى لمدة ١٦,٥ عاماً فقط فى النبات يفقد السلالتين قدرتهما على إصابة الحشرة عند تغذيتها على نباتات مصابة . وهذا نتيجة لأن السلالتين فقدتا صفة إصابتها للحشرة نظير تطفلها هذه المدة الطويلة على النباتات فقط .

٢ - تغيير الفيروس نتيجة لفعل الحرارة :

تغير الفيروس بفعل الحرارة واضح، ففى عام ١٩٣٤ وجد Holmes أنه بزراعة سلالة قوية Virulent من فيروس موزايك الدخان فى قطع من ساق طماطم، وحفظها لمدة ١٥ يوماً فى

جو رطب على 34°C ، وجد أن الفيروس تعرض لتغير كان نتيجته أن عزل سلالة جديدة ضعيفة جداً في درجة إصابتها لنباتات الدخان، فلم تعط أى مظهر إصابة خارجى فسمّاها سلالة متخفية *masked strain*، كما أنها ذات صفة مقاومة الحرارة فتتكاثر في عقل ساق الطماطم على درجة 30°C ، وهى درجة أعلى من الدرجة القصوى لتكاثر السلالة الأصلية.

ولقد فسر في ذلك الوقت (١٩٣٤) ظهور السلالة المتخفية والمقاومة للحرارة بأنه نتيجة للانتخاب، فالسلالة المتخفية توجد في مخلوط الفيروس الأصلي، وأن حفظ القطع المصابة من ساق الطماطم على درجة 34.5°C يقلل من تكاثر السلالة الأصلية، ويساعد على تكاثر السلالة المتخفية... إلا أن التجارب المستمرة لكابتزا *Kapitsa* عام ١٩٥٤ أثبتت أنه تحت تأثير ارتفاع الحرارة يتغير الفيروس، كما لاحظ فوفك *Vovk*، 1954 أيضاً سلوك التغير على فيروس موزايك الخيار رقم ٢ نتيجة لتأثير ارتفاع الحرارة. وفي هذه الحالة ظهرت سلالة جديدة تتميز بضررها الشديد، فتسبب على نباتات الخيار موزايك أبيض وناصعاً، مع الموزايك الأخضر المميز للسلالة الأصلية.

٣ - التغير بتأثير الإشعاع *Radiation*:

عند تعريض أوراق الدخان المصابة بفيروس موزايك الدخان العادى إلى اشعة إكس بمقدار ١٢٠٠-١٤٠٠ يسبب تغيير الفيروس، وفي ظل هذه الظروف عزلت ثلاث سلالات جديدة. لوحظ أيضاً تغير الفيروس عندما تعرضت نباتات الدخان قبل حقنها، وفي هذه الحالة يلاحظ أن سبب التغيير يكون نتيجة لتغيير في ميتابوليزم النباتات التى عرضت، كما وجد أن التأثير يمكن أن يفسر بالتأقلم *adaptation*.

٤ - التغير نتيجة الحقن بمزيج من الفيروسات:

أولاً: يمكن القول بأن أهم عامل لتغيير فيروس النبات، هو إصابة النبات بمخلوط سواء أكان لفيروسات ذات أصل واحد أم لفيروسات تختلف وراثياً. فمثلاً لوحظت إصابة بمظاهر إصابة مختلطة، بتكوين مناطق متفرقة بالنسجة لوحظت فيها مظاهر إصابة لسلالتين جديدتين ظهرت كنتيجة لتغير طراً على السلالتين الأصليتين.

وتتميز السلالات الأربع باختلاف المحتويات داخل الخلايا الخاصة بكل سلالة، فالسلالة الاولى تكون داخل الخلايا بلورات سداسية فقط، أما السلالة الثانية (التخطيط) فتكون محتويات بلورية مستديرة داخل الخلايا والسلالتين الجديديتين: إحداهما سلالة عقدية أى تسبب محتويات عقدية موزعة بكل الخلية، والثانية سلالة خيطية تكون داخل الخلايا بلورات سداسية صغيرة، ومعظم المحتويات الأخرى باراكريستال خيطية.

وأنبت تحليل المحتويات كيمائياً أن السلالة العقدية ناتجة عن سلالة الموزايك المخططة، أما السلالة ذات المحتويات الخيطية فهي ناتجة عن سلالة الفيروس الأصلية. كما وجد أن السلالتين الجديديتين بعد فصلهما وتنقيتهما فى مزارع نقية وجد أنهما تحتفظان بخواصهما.

يمكن القول بأن التغير بسبب الحقن بخليط من السلالات يكون سببه تغير فى ميتابوليزم النبات.

ولقد لوحظ أنه فى حالة الحقن بخليط من السلالتين يظهر فى الانسجة المحتويات الخاصة بالسلالتين، أما المحتويات ذات الأشكال الجديدة فإنها تكون قليلة، وربما لا يتعرف عليها إذا ما فحصت بسرعة ودون دقة. ويتضح أنه لابد من وجود علاقة وطيدة بين هذه الفيروسات حيث إنه نتيجة العمل المتبادل بينهما تتكون فيروسات جديدة.

ثانياً: ويمكن أن يتم التغير أيضاً فى حالة ما إذا كانت محتويات مخلوط الحقن من فيروسات ليست ذات أصل واحد. ولقد حصل Cuxov & Kapitza, 1956 على نتيجة تؤكد ذلك، عندما استعمل مخلوطاً للحقن مكوناً من سلالة لفيروس X البطاطس (X_2) latent، وسلالة من فيروس موزايك الدخان لم تعط أى مظاهر إصابة عند إصابة نباتات البطاطس، ونادراً ما تظهر نقط صفراء على الأوراق العليا وفى حالة الحقن بمخلوط السلالتين (سلالة X_2 مضافاً إليها سلالة موزايك الدخان)، فإن مظاهر الإصابة بالنسبة للموزايك كانت أكثر وضوحاً، وتكونت على الأوراق نقطاً ميتة صغيرة نيكروزية، وأمكن بعد فصل هذه النقط وحقنها فى أوراق نبات الداتورا الحصول على سلالة جديدة، عرفت كسلالة (Virulent X_3) ذات صفة الشدة بالنسبة لعلاقتها بالدخان والداتورا.

وبعمل دراسة سيتولوجية لنبات الدخان المصاب بمخلوط الفيروسين، ثبت أن صفات المحتويات داخل الخلية لكل منهما دائماً ما تختلط في الخلايا.

فسلالة موزيك الدخان تكون بلورات سداسية وسلالة X2 تكون محتويات مستديرة (أجسام X مستديرة). وفي أول فترة الإصابة فإن المحتويات المتكونة تحتفظ بتشكيلها المميز لها، ولكن بعد ذلك تذوب أجسام X بشدة، وكذلك تتحول البلورات السداسية إلى أشكال غير بلورية، وغالباً ما تصبح أجزاء صغيرة.

وتعتبر هذه التغيرات كمظهر خارجي للتأثير المتبادل بين محتويات مخلوط الحقن التي تؤدي إلى تغير سلالة X2.

وتؤدي النتائج السابقة إلى القول بأن الحقن بمخلوط محتوياته ليست ذات أصل واحد، وفي بعض الحالات، يمكن أن تستعمل كعامل من عوامل تغير الفيروس. ومثل هذا المخلوط يوجد بكثرة في الطبيعة، ولذلك يصح التفكير في أن هذا العامل يلعب دوراً كبيراً في تغير وتطور نمو الفيروسات.

٥ - معاملة الفيروس بواسطة المواد المطفرة Mutagenic agents:

استخدم الكثير من المواد الكيميائية والتي ثبت تأثيرها المطفرة على كائنات أخرى لمعرفة تأثيرها على الفيروسات، ومن هذه المواد الكيميائية:

أ - حمض النتروز: Nitrous acid

من أكثر المواد الكيميائية التي درس تأثيرها على الفيروسات النباتية وخاصة فيروس موزيك الدخان، ويرجع تأثير هذا الحامض على مجاميع الأمين، ونتيجة لذلك يتحول الأدينين إلى هيبوكسانثين Hypoxanthine والجوانين إلى Oxanthine ويتحول السيتوزين إلى يوراسيل. وعند تناسخ الحامض النووي فإن الأكسانثين يرتبط مع السيتوزين (مثل الجوانين) أما الهيبوكسانثين فلا يرتبط مع اليوراسيل (مثل الأونيين) وإنما يرتبط مع السيتوزين - اليوراسيل يرتبط مع الأدينين.

وقد استخدمها Mundry 1959، و Sigel, 1960 حيث عامل الأخير تحضيراً من فيروس

موزايك الدخان TMV بحمض النتروز، ثم حقن به نباتات *N.glutinosa* ثم حقن من نقط محلية منفصلة نباتات دخان صغيرة ليختبر وجود الطفرات. فوجد ٤٢ طفرة ناتجة من الحقن بواسطة ١٥٤ نقطة محلية، بينما وجد طفرتان من ١٠٥ نقط محلية في حالة عدم استعمال حمض النتروز. وبهذا فإن حمض النتروز يشجع تكوين الطفرات بقدر ١٤ مرة في المتوسط.

ب - ٥ فلوروراسيل : 5 flourouracil

وجد أنه عندما يعامل النبات الذى يتكاثر فيه فيروس موزايك الدخان بهذا المركب، أنه يدخل في تكوين جزء كبير من RNA المتكون. وقد وجد أن هذا المركب يحل محل اليوراسيل في جزئ RNA، وخلال تناسخ RNA فإن هذا المركب يرتبط مع الجوانين؛ خاصة عندما يكون على الصورة الأيونية بدلاً من السيتوزين.

ج - هيدروكسيل أمين : Hydroxylamine

يؤثر هذا المركب على RNA الفيروس ويرجع أثره إلى مهاجمته للسيتوزين، وتحويله إلى مركبات شبيهة باليوراسيل تسلك سلوك اليوراسيل.

وهناك مواد أخرى تستخدم بكثرة في تخليق سلالات صناعية مثل *N. bromosucci*- *namide Propylene* وغيرها من المواد الكيميائية التى لها تأثير مطفر على الفيروسات.

د - كذلك استعمال Nitrogen Mustard :

شجع تكوين سلالات لفيروس X البطاطس عند تعريض الأوراق المحقونة لبخاره.

طرق الحصول على سلالة نقية :

لدراسة تغير الفيروس يجب أولاً استخلاص سلالة ذات أصل واحد وحفظها في مزرعة نقية. وأحسن طريقة تؤدي نتائج لاختبار سلالة ذات أصل واحد، هو استخلاص الفيروس من نقط محلية متكونة نتيجة لإصابة أوراق بعض النباتات، وتلخص طريقة النقط المحلية فى الآتى :

يستخلص العصير المحتوى على الفيروس من الأنسجة، ثم يخفف بالماء إلى نسبة عالية

(١٠٠٠٠:١ أو ١٠٠٠٠:١) ويحقن به أوراق النبات التي تتفاعل مع الإصابة مكونة نقطة محلية. ونتيجة لتخفيف المستخلص إلى نسبة عالية، يظهر في الخلية المحقونة عدد غير كبير من جزيئات الفيروس، أو ربما منفردة تتكاثر في الخلية المحقونة، وتمر إلى الخلايا المجاورة خلال البلازموديزما.

وقد تبدأ الخلايا المصابة في الموت بعد ٣-٤ أيام، مكونة نقطة محلية.

وتمثل كل نقطة محلية وسط تكاثر جزئ منفصلاً عن الفيروس، أو عدداً من الجزيئات غير كبير دخلها عن طريق الحقن. فإذا فصلت بقعة محلية وحضر منها مستخلص فإنه يحتوى على سلالة فيروس من جنس واحد.

ولقد أثبتت الاختبارات الخاصة أنه يمكن عزل سلالات نقية من تحضير لمزيج من السلالات الفيروسية، وذلك بطريقة النقاط المحلية التي تظهر على نباتات مخصوصة نتيجة لحقنها بالمستخلص بعد تخفيفه. وربما تحتفظ بعض النقاط المحلية بخليط من سلالات الفيروس، ولذلك تكرر عملية الحقن من نقطة محلية مرة أخرى أو مرتين للتأكد من الحصول على سلالة نقية.

ويحتفظ بالبقع المحلية التي تفصل من النبات في آخر تمريره، ومن نسيج كل نقطة محلية يحضر مستخلص منفصل يحقن به نبات يعطى إصابة عامة. ويحتفظ بهذه النباتات كمزرعة نقية للسلالة تستعمل في التجارب التالية.

وتستعمل هذه الطريقة عند دراسة الفيروسات، التي تؤدي إلى ظهور نقط محلية على نباتات خاصة، مثل فيروس موزايك الدخان الذي يسبب البقع المحلية على أوراق نبات *N. glutinosa* ونباتات بعض أصناف الفاصوليا ونباتات *Datura sp.* وكذلك فيروس *Y* البطاطس الذي يسبب النقاط المحلية على أوراق نباتات *Lycium barbarum*.

ومن الواضح أنه لا توجد لكل الفيروسات عوائل معروفة تعطي نقطة محلية. ولذلك ففي بعض الحالات يحسن لعزل سلالة نقية:

١ - أن يحقن النبات بتخفيف عالٍ *ultra filtration* من مادة الحقن.

٢ - وأحياناً يستعمل طريقة الحقن بواسطة إبرة تقمس مرة واحدة في محللول الحقن، ثم يجرح بها ورقة نبات جرحاً واحداً Single pin-puncture وهكذا.

٣ - تثبيط الفيروس جزئياً ببعض الكيماويات Partial inactivation with various chemicals.

٤ - التثبيط الجزئى بالحرارة المرتفعة high temperature.

٥ - التجميد أو التعريض للأشعة فوق الحمراء Sub freezing or exposure to ultraviolet light.

التفسير الكيمايى للتطفر :

وجد أن اصفرار بنجر السكر SBY-V بطول ١٣٧٠٠ انجستروم أو أطول قليلاً قادر على الإصابة، بينما يفقد هذه القدرة بالنسبة للجزيئات التى تقل فى الطول ١٠٠ Å. الوزن الجزيئى لهذا الفيروس هو 2×10^6 ، وهو يعادل الوزن الجزيئى لفيروس موزايك الدخان الذى يفقد القدرة على الإصابة، إذا ما أزيل منه حوالى ٥٠-١٥٠ نيوكليوتيدة.

إن عدد النيوكليوتيدات فى حمض موزايك الدخان واللازمة لإحداث الإصابة هو أقل من ٦٠٠٠ نيوكليوتيدة. وحديثاً ظهر أن فيروس تبقع الفول BBNV يفقد القدرة على الإصابة إذا فقد ١٣٠-٣٦٠ نيوكليوتيدة. وأن وزن جزئ فيروس تبقع الفول BBNV هو $5,2 \times 10^6$ ، ووزن حمض النواة به هو $1,1 \times 10^6$ ، ويحتوى الفيروس على ٣٤٠ نيوكليوتيدة.

أما فيروس بروم جراس brome grass وزنه الجزيئى 1×10^6 ، ويحتوى على حوالى ٣٤٠٠ نيوكليوتيدة.

ومن الممكن اعتبار أن عملية الشفرة الوراثية genetic code هى الوحدة العاملة فى سلسلة حمض RNA الفيروسي، وأن السيسترون cistron يتكون على الأقل من مئات النيوكليوتيدات، وهذه كافية كشفرة لتكوين البروتين. وهذا يجعل احتمال أن هناك أكثر من سيسترون لتكوين الفيروس.

ويمكن القول أن:

يتضاعف الفيروس داخل عائلة نتيجة لتداخل اثنين من الجينوم المستقلين: جينوم الفيروس مع جينوم العائل. إذ إن خلية العائل لا يمكنها إنتاج فيروس، طالما لم يدخلها جينوم الفيروس وكذلك الفيروس لا يمكنه التضاعف إذا لم يتوافق معه جينوم العائل.

منذ أن عرف أن حمض ريبيونيك كليك RNA فيروس موزايك الدخان هو الذى يحتوى على معلومات الإصابة، أخذ تركيب وخواص هذا الحمض الاهتمام الاول، فوجد أنه يحتوى على ٦٥٠٠ نيوكليوتيدة بوزن جزيئى كلى 2×10^6 (كما وجد جزيئات فيروسية صغيرة فى العائل المصاب إلا أنها غير قادرة على إحداث الإصابة).

ومنذ ذلك عرف أنه لابد من وجود سلسلة بطول معلوم Original length لضمان الإصابة وتضاعف الفيروس. وأكد عمل Ginoza W. 1958 من أن انفصال رابطة فوسفودياستير Phosphodiester bond من ٦٠٠ رابطة ينتج عنه فقدان صفة القدرة على الإصابة. يوضح هذا أيضاً أن التواصل أو الترابط بشكل معين لسلسلة البولينيوكليوتيدات Polynucleotide chain ضرورى لعملية الإصابة.

ويظل سؤال إلى أى مدى تتعامل كل القواعد basis فى السلسلة فعلاً مع المعلومات الوراثية، وإذا ما فقد جزء صغير من طرف سلسلة النيوكليوتيدات تصبح غير قادرة على إحداث الإصابة يحتاج إلى إجابة؟؟ وسيظهر أن المعلومات الوراثية الموجودة فى سلسلة البولينيوكليوتيد لفيروس معين معقدة.

وقد يقترح بناء على ذلك أن أغلب السلسلة تحمل معلومات ضرورية للإصابة، إلا أن بعض المناطق ربما تكون غير ضرورية لهذه العملية. وأن التفسير فى مثل هذه المناطق ربما يكون له تأثير على بعض العمليات دون التأثير على قدرة الإصابة. وستظهر الوقائع أن المعلومات الوراثية الموجودة فى البولينيوكليوتيدات لفيروس معين معقدة - ولمعرفة إلى أى مدى تكون النيوكليوتيدات لحمض النواة حاملة للمعلومات الوراثية، لابد وأن يعرف من الملاحظات الخاصة بالطفرات، كما يحدث عند فقدان القدرة على

ويمكن الحصول على التأثيرين السابقين تلقائياً بمعاملة فيروس موزايك الدخان TMV بواسطة حمض النيتروز nitrous acid؛ إذ ينتج عنها فصل Deamination لمجموعة الأمين لتتحول إلى مجموعة هيدروكسيل hydroxyl، دون التأثير على تكامل باقى خيط حمض دن أ الفيروس.

ويوجد فى خيط حمض RNA فيروس موزايك الدخان حوالى ٤٥٠٠ قاعدة.

وربما يؤدي التأثير deamination على مجموعة واحدة من الأمين aminogroup إلى فقدان القدرة على الإصابة. من الممكن إجراء ٣٠٠٠ - ٣٥٠٠ عملية deamination من ٤٥٠٠ عملية ممكنة، وربما يؤدي إلى هذا التأثير رغماً عن أن ١٢٠٠ - ١٥٠٠ مجموعة أمين يمكن فيها الفصل deamination، وأن بعضاً من هذه العمليات deamination ربما يؤدي إلى الطفرات. وأن عملية deamination واحدة تكون كافية لإحداث الطفرة. ولقد وجد أن ثمة عملية أخرى تدخل في هذه العملية وهي عملية إنتاج طفرات خاصة التي تسبب نقطاً نيكروزيس أكثر من كلوروسيس (الشكل البرى Wild type) دخان جافا Java، ويدخل فى هذه العملية حوالى ١٨٠ - ٢٠٠ قاعدة أمينية كل واحدة تسبب عنها طفرة تسبب نيكروزيس.

وقد وجد أن سرعة التطفر الكلية للفيروس تعادل ٨ مرات سرعة تكوين الطفرات، التي تسبب نيكروزيس. وهذا يوضح أن deamination ١٤٠٠ - ١٦٠٠ قواعد أمينية مختلفة ربما تكون مطفرة. ويتلاءم هذا الرقم مع فكرة أن معظم - إن لم يكن كل - القواعد الامينية فى حمض فيروس موزايك الدخان تحمل معلومة وراثية ظاهرة. وتأكدت هذه المعلومة بأن وجد أن كل deaminat يكون مؤثراً للخواص البيولوجية للفيروس.

وكانت نتيجة تجربة معاملة حمض RNA فيروس موزيك الدخان بحامض النيتروز أن تكونت الطفرات. وظهرت أو تأكدت الآراء فى جانب الانتخاب Selection أكثر من الإنتاج الكيميائى للطفرات.

يتكون البروتين من حوالي ٢٠ حمضاً أمينياً. بعض النيوكليوتيدات ضرورى لتقرير مكان (وضع) حمض أمينى واحد فى سلسلة عديد النيوكليوتيدات، وأن الترتيب الطولى للحمض الامينى يقرره تتابع النيوكليوتيدات فى حمض النواة.

يتكون الحمض الامينى الواحد بواسطة وحدة شفرية يمثلها ثلاث نيوكليوتيدات.

وحيث إنه يوجد أربع نيوكليوتيدات فيمكن أن تكون $4^3 = 64$ شفرة (كما سبق).

ويتكون الحمض الامينى بواسطة أكثر من شفرة مختلفة، وذلك فى حالة الشفرة غير الكاملة degenerate، أما فى حالة الشفرة الكاملة non degenerate فإن عدد الشفرات المختلفة يساوى عدد الاحماض الامينية المختلفة الموجودة فى البروتين المتكون.

ويستدل على أن الشفرة غير كاملة non degenerated بطبيعة الحمض الامينى الموجود فى الغلاف البروتينى لسلالة فيروس موزايك الدخان المتكون نتيجة لتأثير حمض النيتروز.

تتكون النيوكليوتيد من وحدات شفرية ثلاثية، والذى اقترح حديثاً أنها Curious غريبة - كل وحدة تحتوى على الاقل على قاعدة حمض residue-uradylic acid يوراديليك، وبذلك إذا كانت كل شفرة ثلاثية بها قاعدة يوراسيل U واحدة، وأن كل شفرة U حمض فيروس نيكروزيس الدخان المساعدة يحتاجها لتكوين الغلاف البروتينى للفيروس. الجزء المتبقى من حمض النواة فهو خالٍ من حمض U يوراسيل، وبالتبعية لا يحتوى على معلومات خاصة بالبروتين. ويقترح هذا الراى وغيره أن تواجد اليوراسيل فى كل شفرة ثلاثية ليست لها القدرة على التمثيل mandatory، وحديثاً نشر عن تجارب حمض RNA للمكون للبروتين بواسطة العمل فى أنبوبه اختبار *in vitro*، ووضع قاعدة وهى أن تواجد حمض أمينى incorporation فى سلسلة بيبتيديات لا يعتمد على قاعدة اليوراسيل فى كل شفرة.

وحديثاً ظهر أن الشفرة تتكون من اثنين أو أكثر من النيوكليوتيدات، فى شفرة واحدة يكون هناك overlapping إذا ما شاركت نيوكليوتيدة واحدة فى عمل أكثر من حمض أمينى

واحد في سلسلة البيبتيدات.

لا تنتج الطفرات دائماً من تغييرات في تكوين الحمض الأميني المكون للغلاف البروتيني، حتى ولو اظهرت مظاهر إصابة على العائل تغييراً مميزاً. وإذا حصل تبادل متغير في الحمض الأميني فيلاحظ عادة تغير واحد وليس متجاورين، وقد سجل أن حمض النيتروز أظهر تبادلاً في القواعد ١٦ أو ١٧ قواعد الحمض الأميني المكون لغلاف الفيروس البروتيني.

إن المعلومات الموجودة في حمض RNA الفيروس ربما تكون معقدة، إذ أنها ربما تتكون من جينات أو سيسترونات genes or cistrons، ولقد وضع وجود جينات على حمض النواة في البكتريوفاج، وذلك بواسطة تجارب إعادة التركيب recombination. أما أحماض الريبو لفيروسات النبات فيظهر أنها تحتوى أيضاً على جينات، رغم أن معرفة ذلك أخذ طريقاً مختلفاً عن سابقه.

إن فكرة أن خيط حمض ريبوموزايك الدخان يحتوى على عديد من الشفرات cistra تؤكدتها الحقيقة التي تقول إن ٢٠٠-٤٥٠ قاعدة أمينية، تشترك في عمل نيكرويس على دخان جافا Java. إن التطفر ربما يغير صفة واحدة بينما تظل الصفات الأخرى غير متغيرة. وهذا يبين أن خواص سلالة واحدة لفيروس موزايك الدخان، وربما أيضاً لفيروسات نباتات أخرى تحددها سيترونات cistrons على الحمض RNA. وإذا قبلنا فكرة أن الشفرة ثلاثية، وإذا أخذنا أيضاً في الاعتبار أنه لا يحصل خلط overlapping، فإن وحدة البوليببتيد لشفرة فيروس موزايك الدخان $3 \times 108 = 474$ نيوكليوتيدة للسيترون الذي يقرر تكوين التركيب البنائي.

لا بد من تصور أن السلالات العديدة لفيروسات النبات تعكس أشياء مفيدة لتجارب إعادة التركيب Recombination، التي صممت لتحديد الجينات على خيط RNA. ولسوء الحظ لا توجد ظاهرة واضحة لتبين أن إعادة التركيب تكون بين السلالات القريبة related لفيروسات النبات، رغمًا عن أن بعض الملاحظات على فيروسات Tom. Spot W V. وفيروسات TNV, PVX تبين إعادة التركيب.

توابع الفيروسات Satellite Agents :

عند تنقية الفيروسات المعزولة من النباتات المصابة، قد يظهر في التحضيرات النقية نوع من الحمض النووي RNA مغاير للحمض النووي الخاص بجينوم الفيروس. وبعض من هذه الأحماض النووية تسمى تحت الوحدات الجينومية Subgenomic RNA. وبالإضافة إلى ذلك فإن بعض العزلات من بعض الفيروسات النباتية تحتوي على عامل أو عوامل تابعة Satellite agents. ويمكن تمييز نوعين من هذه العوامل على أساس مصدر الغلاف البروتيني المستخدم في تغليف الحمض النووي RNA؛ أولا الفيروسات التابعة Satellite Viruses، نجد أن الحمض النووي يحمل الشفرة الخاصة بتكوين الغلاف البروتيني Coat protein. وثانياً في الـ RNA التابع Satellite RNAs فإن الحمض النووي يغلف بقشرة بروتينية تتركب من البروتين المغلف للفيروس المساعد. وعموماً فإن الفيروس التابع أو الحمض النووي التابع Satellite virus or RNAs يتميز بالخصائص التالية:

١ - المادة الوراثية لهما تتركب من حمض نووي رايبوزي وحيد الخيط ssRNA جزيئاته صغيرة الحجم، ولا يكون الحمض النووي RNA جزءاً من جينوم الفيروس المساعد Helper Virus، ولكنه عادة ما يكون محدوداً في تشابهه مع الفيروس المساعد في التتابع النيوكليدي.

٢ - يعتمد تضاعف RNA على وجود فيروس مساعد خاص.

٣ - هذا العامل يؤثر على أعراض المرض على الأقل في بعض العوائل.

٤ - تضاعف الفيروس التابع يتداخل لحد ما مع تضاعف الفيروس المساعد.

٥ - الفيروسات أو الأحماض النووية التابعة Satellite تتضاعف في السيتوبلازم بفضل الحمض النووي الذاتي.

وفي السنوات الأخيرة ظهر أن عديداً من الفيروسات التابعة Satellite المصاحبة لمجموعة من الفيروسات تشبه الفيروسيدات في الخصائص التركيبية، واطلق عليها اسم الفيروسيدات Virusoides، ولكن هذا الاصطلاح سرعان ما عدل عن استخدامه.

الفيروسات التابعة النباتية : Satellite plant Viruses

لقد تأكد وجود ثلاثة فيروسات نباتية تابعة مع مثالين آخرين، يحتمل كونهما فيروسات تابعة. وهذه الفيروسات التابعة هي أصغر الفيروسات المعروفة حتى الآن. وكان أكثر هذه الفيروسات دراسة هو الفيروس التابع نيكروزيس الدخان (STNV) Satellite tobacco necrosis V.، وهو المثال الذى نتناوله بالتفصيل هنا.

الفيروس المساعد Helper لنيكروزس الدخان (TNV) عبارة عن جسم صغير ايكوزاهيدرال بقطر حوالى 30 نانومتر. ويتضاعف ذاتياً دون الحاجة إلى فيروسات أخرى، ويصيب فى العادة جذور النبات فى الحقل. بعض التحضيرات من TNV يحتوى على كميات ضئيلة من جزيئات شبة فيروسية بقطر حوالى 18 نانومتر، وتعتمد فى تضاعفها على الفيروس الاكبر. ولقد وجد أن هناك تخصصاً واضحاً فى العلاقة بين الفيروس المساعد والفيروس التابع Helper Virus and Satellite virus، ولقد أمكن عزل سلالات كلا الفيروسين، ولقد وجد أن بعضاً فقط من هذه السلالات الخاصة بالفيروس المساعد Helper، يمكنها أن تنشط سلالات معينة من الفيروس التابع Satellite.

وقد وجد أن كلا الفيروسين التابع والمساعد لنكروزس الدخان تنتقل بواسطة الجراثيم السابحة Zoospore للفطر *Olpidium brassicae* ويعتمد نجاح هذا النقل على توافر عدة عوامل أهمها، هي: سلالة كل من الفيروس المساعد والتابع، وسلالة الفطر، ونوع العائل.

وكان التحديد الكامل للتتابع النيوكلتيدي فى جينوم الفيروس التابع STNV هو من اوائل الفيروسات التى تم فيها تحديد هذا التتابع، ثم تم تحديد تتابع الاحماض الامينية فى الغلاف البروتينى استنتاجاً من التتابع النيوكلتيدي، ثم بعد ذلك أمكن إثبات ذلك بتحديد التتابع مباشرة فى الغلاف البروتينى للفيروس التابع STNV. ولقد بينت تلك النتائج أن الفيروس التابع يحمل شفرة لجين واحد، هو المسؤول عن تكوين الغلاف البروتينى.

كما وجد أن الفيروس التابع STNV لا يحوى أى تشابه معنوى فى التتابع النيوكلتيدي مع فيروس TNV، كما وجد أن الحمض النووى للفيروس التابع STNV يتمتع بخاصية الثبات الملحوظ داخل العائل؛ حيث وجد أنه يمكنه البقاء فى الاوراق المحقونة

لمدة عشرة أيام في غياب الفيروس المساعد Helper. وهذه الخاصية تسمح للفيروس التابع بالبقاء حياً لفترة داخل الخلية دون الغلاف البروتيني، أي قبل أن تصبح الخلية مصابة بالفيروس المساعد.

ولكن الاعتقاد السائد أن الحمض النووي RNA للفيروس التابع STNV يتضاعف مستعيناً بالحمض RNA وإنزيم RNA Polymerase للمشفّر على الأقل في جزء منه بواسطة الفيروس المساعد Helper Virus. وتضاعف الفيروس التابع لحد ما يعوق تضاعف الفيروس المساعد TNV، ولهذا فمن الممكن أن يحدث تنافس بينهما للحصول على إنزيم Repli-case، حيث ظهر أن حجم النقط المحلية Local lesion يقل في حالة وجود الفيروس التابع في اللقاح، ويعتقد البعض أن ذلك يعود إلى النقص في تضاعف الفيروس TNV.

ولقد أمكن نقل الفيروس التابع STNV لكل من النباتات، سواء ذات النواة الحقيقية أو غير الحقيقية eukaryotic & prokaryotic.

الحمض النووي التابع Satellite RNA:

وكان فيروس موزايك الخيار Cucumber mosaic Virus (CMV)، والذي غالباً ما يؤدي إلى ظهور مظهر الريشة Fern leaf في الطماطم أول من أظهر حمضاً نووياً SRNA تابعاً تم عزله من الطماطم المصابة بفيروس CMV، والتي كانت تظهر عليها أعراض النيكرورس بجانب مظهر الريشة Fern leaf حيث كان وجود الـ RNA التابع والذي أطلق عليه (CMVRNS) هو المسؤول عن زيادة شدة المرض؛ حيث إنه من المعروف أن بعض سلالات فيروس موزايك الدخان وفيروس موزايك الخيار تعطي مظهر الريشة Fern leaf في الطماطم المنزرعة في الحقل.

وبعد ذلك ظهر وجود الـ RNA التابع في تحضيرات عديد من الفيروسات المنتحية لمجموعات Nepovirus: Cucumovirus, Sobemovirus & Tombusvirus. ولقد أمكن حصر ٣٣ حمضاً نووياً تابعاً Satellite مصاحبة لعدد ٢٩ فيروساً، ولكنها لا تؤدي دائماً إلى زيادة شدة المرض. وتختلف الأحماض النووية التابعة عن الفيروسات التابعة Satellite في أنها لا تحمل شفرة الغلاف البروتيني.

الباب الرابع

تقسيم فيروسات النبات

Plant Viruses Taxonomy

تقسيم فيروسات النبات

Plant Viruses Taxonomy

أخذت عملية تقسيم الفيروسات إلى مجاميع أو رتب وعائلات محاولات كثيرة إلى أن استقرت ووضعت لها قواعد، وقد كان ذلك في الكونغرس الدولي للميكروبيولوجي عام ١٩٦٦، حيث تكونت لجنة رسمية دولية سميت المجموعة الدولية لتسمية الفيروسات:

International committee on Nomenclature of Viruses (ICNV)

والتي عدلت فيما بعد (١٩٧٥) إلى المجموعة الدولية لتقسيم الفيروسات (ICTV) ووفق على الأخذ بنظام وضعه Lowf, Horne Tournier (L.H.T)، فوضعت تسمية للفيروسات على الأسس التالية:

أولاً: الفيريون Virion هو أساس التقسيم (الفيريون هو جزئ الفيروس الكامل ذو المقاسات المتعارف عليها والقادر على إحداث الإصابة).

ثانياً: هناك أربع خواص تستخدم للتمييز بين العائلات المختلفة:

- ١ - الطبيعة الكيميائية لحمض النواة بالفيريون.
- ٢ - سيمترية شكل الفيريون.
- ٣ - وجود الغلاف Envelope من عدمه.
- ٤ - يميز الفيروسات الحلزونية أبعاد الفيريون، أما الفيروسات المكعبة فيميزها عدد الكابسوميرات بالفيريون.

وبناء على ذلك أمكن تقسيم الفيروسات إلى عائلات، طبقاً للآتي:

أولاً: بالنسبة لحمض النواة:

١ - فيروسات تحتوى على حمض نواة DNA.

٢ - فيروسات تحتوى على حمض نواة RNA.

ثانياً: بالنسبة لسمتية الشكل :

١ - فيروسات حلزونية (H) Helical.

٢ - فيروسات مكعبة (C) Cubical.

٣ - فيروسات مركبة السمتية (B) Binal كما هو الحال فى البكتريوفاج.

ثالثاً: بالنسبة لوجود الغلاف (E) Envelop من عدمه :

١ - فيروسات لها غلاف (E) Enveloped.

٢ - فيروسات ليس لها غلاف (N) Non Enveloped.

رابعاً: بالنسبة لحجم الفيروس :

١ - فيروسات عصبية لها طول وعرض.

٢ - فيروسات كروية لها عدد كابسوميرات.

وبناء على ما سبق وضع الهيكل الآتى للتقسيم :

قبيلة Phylum	تحت قبيلة Subphyla	قسم Class	رتبة Order	فصيلة (عائلة) Families
Vira	بناء على نوع الحمض النووى DNA or RNA	بناء على سمتية النوكليوكاسيد السمتية Symmetry H.C.B.	بناء على وجود الغلاف من عدمه N.Naked E.Enveloped Virales	بناء على حجم الفيروس (حجم العصى وعدد كابسوميرات الفيروس الكرى). Viridae

واستعمل هذا النظام بالنسبة لكل الفيروسات (فيروسات الإنسان والحيوان وفيروسات البكتريا - فيروسات الحشرات) إلا أن علماء فيروسات النبات وجدوا أنه لم يتجمع لديهم

فيروسات الذببات

من المعلومات، ما يسمح بتقسيم فيروسات النبات إلى عائلات. ووافقوا على الأخذ بنظام الكريبتوجرام Cryptogram.

تفسير الكريبتوجرام:

يحتوى كل كرايبتوجرام على أربع أزواج من الرموز لكل منها بسطه ومقامه

..... و و و وتبين كالآتى:

الزوج الأول :

Type of Nucleic acid/No. of حمض النواة / عدد الخيوط فى حمض النواة
strands

رموز حمض النواة :

حمض النواة ريبونوكليك R = RNA – حمض النواة ديزوكسى ريبونوكليك D =
DNA

رموز عدد الخيوط :

خيط واحد ss = Single - stranded – زوج من الخيوط ds = double-stranded

الزوج الثانى :

الوزن الجزيئى لحمض النواة (بالمليون دالتون) / النسبة المئوية لحمض النواة فى الفيروس

Molecular weight of nucleic acid (in million)/ Percentage of nucleic acid
in infective virion

هذا الزوج يعطى تركيب الجزيئات الفعالة، ولكن عندما يكون الفيروس موجوداً فى قطع مختلفة فإنه سيذكر تركيب كل قطعة منفرداً فمثلاً فيروس القرقة فى الدخان

$$TRV: R/1, \underline{2.3/5} + \underline{(0.6 - 1.3) / 5.}$$

الزوج الثالث :

يشمل الخطوط الخارجية للفيروسون / شكل النيوكليوكابسيد

Outline of particle/shape of nucleocapsid

(النيوكليوكابسيد عبارة عن حمض النواة + البروتين المتصل به) وتستعمل الرموز

التالية :

S = Essentially spherical

- مستديرة

E = Elongated with

- مستطيلة بجوانب متوازية وحواف غير مستديرة

parallel sides - ends not rounded

- مستطيلة بجوانب متوازية وحواف مستديرة

U = Elongated with parallel sides, - ends rounded.

X = Complex or none of above

- مختلطة أو لم تذكر سابقا

الزوج الرابع :

Type of host/Type of vector نوع المائل / نوع الناقل

رموز نوع المائل :

P = Pteridophyta معراة البذور

A = Actinomycetes اكتينومايسيتس

S = Seed plant نبات بذري

B = Bacteria البكتيريا

V = Vertebrate فقاريات

F = Fungi فطريات

I = Invertebrate لا فقاريات

رموز نوع الناقل :

O = No vector (لا يوجد ناقل) L = leaf hoppers (نطاطات الاوراق)

A = Aphid (المن)	N = Nematoda (نيماتودا)
B = Beetle (خنفس)	W = White fly (الذبابة البيضاء)
C = Coccidae (قشرية)	I = Ixodoidate
D = Diptera (زوجية الأجنحة)	* = No information (لا توجد معلومات)
E = Eriophidae (العناكب)	G = Gymnocerata
	TH = Thrips (الترس)

وبناء عليه قسمت فيروسات النبات إلى (٣٤) أربعة وثلاثين مجموعة.

وقد أمكن ترتيبها طبقاً لوجود الغلاف من عدمه ثم الحمض النووي ونوعه، وبلى ذلك الشكل الخارجى إلى:

أولاً: فيروسات لها غلاف وهى تحتوى على حمض نووى من نوع ss RNA ذى خيط واحد، وتنقسم إلى فيروسات:

١ - ذات شكل عصوى مثل عائلة الـ Rhabdoviridae.

ب - ذات شكل كروى مثل الفيروسات التابعة لمجموعة الـ Tospoviruses.

ثانياً: فيروسات ليس لها غلاف، وبناء على الحمض النووى تنقسم إلى:

١ - فيروسات ذات حمض نووى من نوع DNA وهى إما حمض نووى مزدوج الخيط (ds

DNA) مثل الفيروسات التابعة لمجموعة الـ Caulimovirus group، أو حمض نووى

وحيد الخيط (ss DNA) مثل الفيروسات التابعة لمجموعة الـ Geminivirus group.

ب - فيروسات ذات حمض نووى من نوع RNA وهى إما حمض نووى مزدوج الخيط ds

RNA مثل الفيروسات التابعة لعائلة الـ Reoviridae، أو حمض نووى وحيد الخيط

(ss RNA)، وهذا يقسم طبقاً للشكل الخارجى إلى:

١ - خيطى مثل الفيروسات التابعة لمجموعة الـ

Potviruses, Closteroviruses, Carlaviruses

٢ - كروى ومنه الكروى الكبير مثل مجاميع:

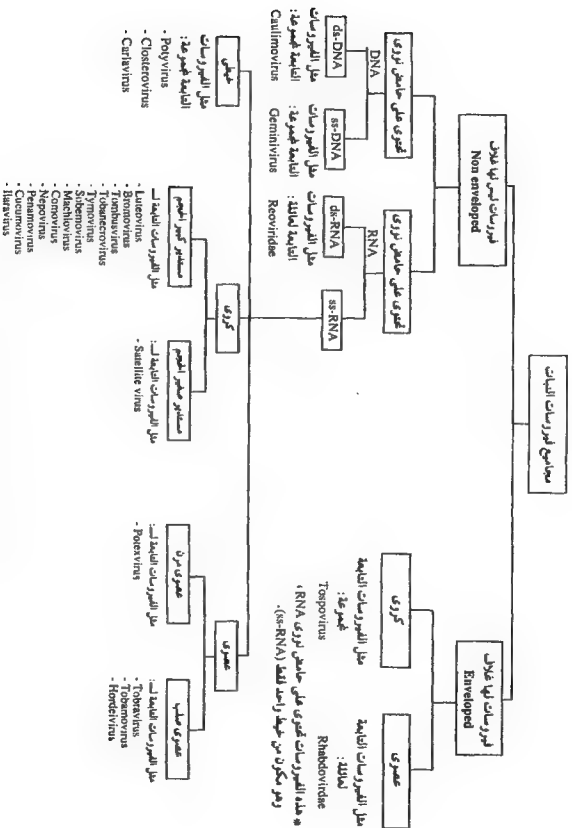
Cucomoviruses, Nepoviruses

والكروى الصغير مثل الفيروسات المساعدة (المرافقة) Satellite viruses

٣ - عصوى ومنه العصوى المرن Flexible مثل الفيروسات التابعة لمجموعة Potex vi-

ruses أو عصوى صلب rigid مثل الفيروسات التابعة لمجاميع Tobraviruses,

Tobamoviruses، ويتضح هذا فى التخطيط والصورة المرافقة (الشكل ٤ - ١) .



شكل (٤-١) :مجموع وعائلات الفيروسات التي تعيب النبات

وقمت الموافقة في المؤتمر الدولي التاسع للفيروسولوجي المنعقد في جلاسكو ١٩٩٣ على ما تقدمت به تحت مجموعة فيروس النبات من مقترحات خاصة بتقسيم فيروسات النبات نجملها في الآتي:

أولاً: اتباع نظام التقسيم المعمول به من تقسيم الفيروسات إلى رتب Orders وعائلات Families وتحت عائلة Subfamily واجناس Genus في الفيروسات التي اتضحت صورتها التصنيفية، وذلك بدلاً من استعمال الكريتوجرام. وأن مقياس وضع الفيروس في مكانه التصنيفي يكون بناءً على التحليلات الآتية:

١ - خواص الفيروس Virion properties

أ - الخواص المورفولوجية للفيروس.

ب - الخواص الطبيعية.

ج - خواص الجينوم.

د - تواجد اللبيبيدات من عدمه.

هـ - تواجد الكربوهيدرات من عدمه.

٢ - تنظيم الجينوم وتضاعفه Genome organization and replication:

أ - تنظيم الجينوم.

ب - استراتيجية التضاعف لحمض النواة replication.

ج - خواص عملية النسخ Transcription.

د - خواص عملية الترجمة translation وبعد Translation.

هـ - مكان تواجد بروتين الفيروس ومكان تجمعهم ومكان نضجه وانطلاقه.

و - سيتوباثولوجي، وتكوين الجسم الداخلي Inclusion body formation.

٣ - الخواص الانتيجينية Antigenic properties

أ - العلاقات الميولوجية.

ب - الخريطة epitopes .

٤ - الخواص البيولوجية Biological properties

١ - المجال العوائلى - الطبيعى والتجريبى .

ب - العلاقة المرضية الملازمة للمرض .

ج - الحالة المرضية والتشريح المرضى Tissue tropisms .

د - طريق الانتقال فى الطبيعة .

هـ - العلاقة الحشرية .

و - التوزيع الجغرافى .

وللتوحيد العالمى يتبع الآتى عند كتابة أسماء الفيروس :

١ - لا يكتب الحرف الاول كبيراً not capital .

٢ - لا تستعمل الأقواس italics .

٣ - تحذف كلمة شكل type بل يكتب كالاتى reovirus I. rather than reovirus type I .

٤ - الفصلة لا تستعمل reovirus I not reovirus - I (hyphen) .

٥ - لا تنقيط no punctuation .

٦ - لا تستعمل علامات أو اشارات no superscripts .

٧ - لا تكتب الاسماء المختصرة بالحروف acronyms .

٨ - لا تستعمل الأقواس italics فى حالة الاسماء المركبة، والتى تشمل العائل النباتى أو

اسم الحشرة .

أشياء عامة :

١ - لا تقسيم للفيروسات المصاحبة ولكن توضع فى قائمة تشمل المعلومات عنها .

٢- تعريف نوع الفيروس species definition

A polythetic class of viruses that constitutes a replicating Linkage and occupies a particular ecological niche.

قسم من الفيروسات، والتي تحتوى على تضاعف الطولى وتشمل خاصية مميزة.

٣ - تعريف الجنس والعائلة The Genus and family definition

A population of V. species that share common characteristics and are different from other population of species.

مجموعة من أنواع الفيروسات التى تشترك فى الخواص العامة، تختلف عن بعضها فى افراد الأنواع.

٤ - واشتمل تقسيم فيروسات النبات على:

وتكون التسمية كالاتى:	20 Order	٢٠ رتبة
Genus - Virus	50 Families	٥٠ عائلة
Subfamily - Virinae	9 Sub families	٩ تحت عائلة
Family - Viridae	1 49 Genera	١٤٩ جنساً
Order - Virales	4 Subgenera	٤ تحت أجناس
	2644 Species	٢٦٤٤ نوعاً

وقد تشتمل قائمة فيروسات النبات غير المقسمة إلى عائلات على نحو ٥٠٠ خمسمائة اسم، وقد ووفق على إدراج بعض المجموع الفيروسية السابق الموافقه عليها فى العائلات النباتية التالية فى كوفنجرس ١٩٩٦ .

١- بروموفيريدي : Bromoviridae

وتشتمل على مجموعات (groups) برومو Bromo + كيكوكومو Cucumo الار Har

الفامو Alfamo

الفيريون ايزوميتريك - الجينوم ثلاثى .

يتمثل بروتين الغلاف translated من تحت جينوم Sub-genomic RNA مأخوذ من ثلاث اجزاء half - 3 من سيسترون مزدوج bi-cictron لحمض RNA (c. 2k b.)

٢ - بوتى فيريدى: Potyviridae

تشتمل على مجموعات: بوتى فيروس Poty V، بيموفيروس Bymo V وريموفيروس RymoV وجنس ايبوموفيروس Ipomo V، الفيريون خيطى filamentous بمقاس ٦٨٠-٩٠٠ نانومتر طول، ١١ نانومتر قطر - ينتهى حمض ssRNA فى خمس 5'Vpg، وفى (A) Adenine poly 3 جزيعات جينوم RNA، يعبر عنها بروتين apolypotein، والتى يكون بها بروتين الغلاف النهاية C (C. Terminal) تحتوى الخلايا المصابة على محتويات داخلية سيتوبلازمية مميزة Cylindrical inclusion تتكون من بروتين الفيروس (C. 70 K)

البوتى فيروس Poty V والريموفيروس جزئى واحد monopartite، بينما بيموفيروس ثنائى الجزئى Bipartite

٣ - كوموفيريدي: Comoviridae

وتشتمل على مجاميع كوموفيروس Como V، ونيبوفيروس Nepo V وفابا فيروس Faba V.

الفيريون ايزومترى Isometric والجينوم فى جزئين Bipartite والجينوم ssRNA مغلف فى بولى بروتين encoated a polyprot والجينوم له VPg & ذيل a poly A، ويحتوى الجزئى على ٨٠ طبعة Copies لبوتين واحد للغلاف او ٦٠ طبعة، تتكون كل منها من ٢ او ٣ اغلفة بروتينية، والذى له Mn مزدوج (> 6 K a combined Mn of < 60 K)

٤ - سيكوفيريدي: Sequiviridae

الجزيعات ايزومترية، الجينوم ssRNA فى جزئين (Bipartite) 2 parts الجينوم RNA فى داخل اغلفة بروتينية polyprot التى تحتوى على الغلاف البروتينى .

الجزئيات تشتمل ٦٠ نسخة، كل يتكون من ٣ أو ٤ أصناف sp. من الغلاف البروتيني.

وتتكون الاغلفة البروتينية encoded upstream من الريبليكيز Replecaise domains

فى البولى بروتين، ومتبوعة بواسطة preceded نهاية N - terminal ٤٠ - ٦٠ N- terminal 40-60 k - N. terminal (L. protein).

٥ - تومباس فيريدى: Tombusviridae

وتشتمل على مجاميع تومباس فيروس Tombus وكارموفيروس Carmo V.

الجزئى ايزومترى، الجينوم جزء واحد (ssRNA) (monopartit) (<5kb). والغلاف البروتينى (>38 K).

توجد تكوينات مميزة فى سيتوبلازم الخلايا المصابة

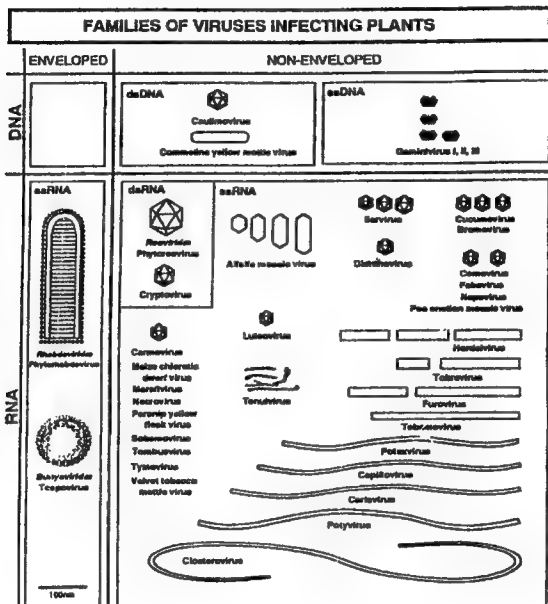
ترتيب الجينوم 5'30 K ORF يتبع بواسطة C 90 K ORF فى العائلة نفسها.

٦ - جيمينى فيريدى: Geminiviridae

الجزئى مزدوج geminate الجينوم ssDNA يتكون الجينوم من:

Mono & Inter genera	ويشمل قسم	monopartite	جزئى واحد
Bigen	ويشمل قسم	bipartite	جزئى مزدوج
Leaf hopper	ينتقل بواسطة نطاوط الورق	Mono & Inter 9	والقسم الاول
White fly	ينتقل بواسطة الذبابة البيضاء	Bigen	والقسم الثانى
Monocotolydon	النباتات ذوات الفلقة الواحدة أساساً	Mono	ويصيب قسم
Dicotolydon	وتسمى Bi ذوات الفلقتين	Inter	ويصيب قسم

تنقسم العائلة إلى ثلاث تحت قسم أ، ب، ج A, B, C شكل (٤ - ٢).



شكل (٤ - ٢) يمثل مجاميع وعائلات فيروسات النبات

تحت قسم أ، ج يحتوي على جينوم من نوع ssDNA يحتوى على ٢,٦٨٧ - ٢,٧٤٩،
٢,٩٩٣ نيوكليوتيد على التوالي، وينتقل بواسطة نطاط الورق - يمثل تحت قسم أ فيروس
تخطيط الذرة. Maize streak V - ويصيب تحت قسم أ نباتات ذوات الفلقة الواحدة فقط

monocot، ويمثل تحت قسم جـ C فيروس تجعد قمة البنجر. Beet curly top V، ويصيب نباتات ذو الفلقتين فقط. dicot، ويمثل تحت قسم بـ B فيروس موزيك الكسافا Cassava mos. V. الأفريقي، الجينوم من جزئين ٢,٥٨٨ – ٢,٧٧٩، ٢,٥٠٨، إلى ٢,٧٢٤ نيوكليوتيد ينتقل بواسطة الذبابة البيضاء White fly، ويصيب نباتات ذات الفلقتين فقط. Dicot.

جزئيات فيروسات تحت الأقسام يكون شكلها مزدوجاً geminate بمقاس ٢٠ X ١٨ نانومتر، تتكون من جزئين غير كاملين إيكوزاهيدرا icosahedra لها سيمترية T-1.

يشتمل كل على ٢٢ كابسومير، تتركب من تحت وحدات ذات وزن جزئى ٢٨-٣٤ X ١٠، ويعتقد أن التضاعف يتم فى النواة حيث يتجمع الجزئيات فى تكتلات كبيرة والمائلة لها مجال عوائل ضيق (قليل).

الجزئيات توجد أساساً فى اللحاء وأحياناً فى بعض خلايا أخرى، بعضها يمكن أن ينتقل ميكانيكياً. تنقل نطاطات الورق فيروسات تحت قسم أ، جـ بينما تنقل الذبابة البيضاء فيروسات تحت قسم بـ فى حالة باقية Persistant.

ملخص الفروق بين مجاميع فصيلة جيميني

Gemini Virus Groups

تركيب الجينوم Genom Comp.	الناقل Vector	المائل HOST	الفيروس Virus
واحد ssDNA Single Partite	نطاط الورق Leafhopper.	ذات الفلقة الواحدة Monocot.	تحت المجموعة ١ Maize Streak Virus (MSV) فيروس تخطيط الأذرة
واحد ssDNA Single Partite	نطاط الورق Leafhopper.	ثنائية الفلقات Dicot	تحت المجموعة ٢ Beet Curly top V. (BCTV) فيروس تجعد قمة البنجر
جزئين ssDNA Dipartite	الذبابة البيضاء White fly.	ثنائية الفلقات Dicot	تحت المجموعة ٣ Bean Golden mosaic V. (BGMV) فيروس الموزيك الذهبى فى الفاصوليا

يشمل تحت المجموعة ٢ بعض خواص من تحت المجموعة ٣، ١

كل فيروسات المجموعة جيميني لها تتابع جينوم

هذا بجانب العائلات الحيوانية التالية، والتي تشتمل على فيروسات نبات:

١ - بونيا فيريدى: Bunya viridae (ssRNA)

وتشتمل على Tospo V. تسبوفيروس / نبات - Riftvalleyv. حمى الوادى المتصدع
حيوان Bunya V. بونيا فيروس / حشرات وققاريات.

Hanta V. هانتا فيروس / فقاريات

Nairo V. نيروفيروس / فقاريات / حشرات

Plebo V. بليبو فيروس / فقاريات / حشرات

٢ - ريوفيريدي: Reoviridae (ds RNA)

وتشتمل Phytoreovirus فيتو ريوفيروس؛ أى التى تصيب النبات على :

Fiji V. فيجي ريوفيروس تصيب النبات ونطاطات النبات .

Oryza V. اوريذا ريوفيروس تصيب النبات ونطاطات النبات .

Orthoreo V. أورثوريوفيروس تصيب النبات الفقاريات .

Orbi V. أوربي ريوفيروس تصيب النبات والفقاريات والحشرات .

الصفات الأساسية :

الفيروسات لها كابسيد أيزومتري ذات سيمتري مكعبة icosahedral بقطر ٦٠ - ٨٠ نانومتر، عارية عادة ولكن يوجد أغلفة كاذبة يحتمل أنها من أصل العائل - لها كابسيد ذات طبقتين، مقاوم للمذيبات الدهنية، يحتوى الفيرون على حمض النووى ريبو مستقل وحمض نواه ريبوبوليميريز Polymerase - يحتوى الجينوم على خيط مزدوج من حمض النووى ريبو فى ١٠ - ١٢ قطعة مجمل الوزن الجزيئى ١٠ - ١٦ X ١٠⁶ ، ويكون الكل داخل كابسيد واحد .

يتكاثر الفيروس داخل السيتوبلازم مكوناً محتويات، تحتوى فى بعض الأحوال على جزيئات فيروسية فى ترتيبات بلورية .

كما أمكن تقسيم الفيروسات التى تتبع العائلة إلى :

تحت مجموعة أ :

١ - فيروس تقزم الارز : Rice Dwarf V.

٢ - فيروس التدرن الجرعى Wound tumor V.

تحت مجموعة ب:

١ - فيروس التقزم الخشن فى الذرة Maize rough dwarf V.

٢ - فيروس التخطيط الاسود والتقزم فى الارز Rice black streak dwarf V.

٣ - فيروس مرض فيجى قصب السكر Sugarcane Fiji dis V.

٣ - بارتيتى فيريدى Partitiviridae (ds RNA)

قد تكون هذه الفيروسات ثنائية أو ثلاثية الجينوم (dsRNA) داخل جزيئات أيزومترية قطرها ٣٠ نانومتر (تحت مجموعة A) أو حوالى ٣٨ نانومتر (تحت مجموعة B) - وتوجد بتركيزات منخفضة فى السيتوبلازم للنباتات، ولا تظهر أعراض عند حدوث العدوى. المجال العوائلى ضيق.

الانتقال خلال البذور ويتم عن طريق حبوب اللقاح والمبيض Ovule، ولا تنتقل عن طريق المن ولا بالتطعيم ولم يعرف ناقلات بيولوجية - الفيروسات قيل إنها غير قادرة على الانتشار من خلية إلى أخرى، واحتمال أن يحدث لها تضاعف فقط أثناء تكاثر الخلية.

تحت المجموعة الأولى A : Subgroup A

فيروس كريبتيك البرسيم الأبيض White Clover Cryptic V.

الحمض النووى dsRNA مستقيم ذى وزن جزيعى ١,٢ - ١٠,٩٧ × ٦١٠ جزيئات ايزومترية ٣٠ نانومتر.

Beet Cryptic V. 1 فيروس كريبتيك البنجر ١

Beet Cryptic V. 2 فيروس كريبتيك البنجر ٢

Subgroup B تحت المجموعة الثانية ب:

فيرس البرسيم الأبيض White Clover Cryptic V. 2 ٢

جزيئات من dsRNA وزن جزيئي ١,٤٩ - ١,٣٨ X ٦١٠ جزيئات أيزومترية قطرها ٣٨ نانومتر.

فيروس كريبتيك البرسيم الاحمر ٢ Red Clover Cryptic V. 2

وتشتمل على Alphacrypto V. الفاكريبتوفيروس.

Betacrypto V. بيتا كريبتو فيروس.

Partiti V. بارتيتي فيروس يصيب الفطر.

Chryso V. كريزوفيروس يصيب الفطر.

٤ - رابد وفيريدي: Rhabdoviridae (ssRNA)

وتشتمل Phytorhabdo V. فيتورابدو فيروس - تصيب النبات.

وتنقسم إلى Cytorhabdo V. سيتورابدو فيروس.

Nucleorhabdo V. نيوكليورابدو فيروس.

الصفات الأساسية للفصيلة:

الفيريونات ذات شكل رصاصي Bullet shape (مستطيلة بنهاية واحدة مستديرة والآخره مبطة flattend) او عصوي Bacilliform بمقاس ١٣٠-٣٠٠ نانومتر طول ٧٠ نانومتر عرض بغلاف ليمبوبروتين يحتوى على جزيئات Peplames فيروسية الغلاف، ويحتوى الغشاء البروتينى على خمس بروتينات أساسية تضم حمض النواة للفيريون وآخر بوليميريس.

الجينوم جزئى واحد من حمض النواة ريبو للمفرد بوزن جزيئى ٣,٥-٤,٦ X ٦١٠. أفراد بعض الاجناس يتكاثر داخل مفصليات الأرجل، مثل الفقاريات أو النباتات الراقية وبعضها يتكاثر داخل الحشرات.

جنس رابدو فيروس النبات.

وأمكن تقسيم فيروسات الرابذو والتي تصيب النباتات تبعاً لدوافعها كالآتي :

١ - فيروسات تنتقل بواسطة المن Aphid tran mission

- Lettuce necrotic yellows V. اصفرار الخس المنقط
- Broccoli V. فيروس بروكلي
- Sonchus yellow mottle V. فيروس التبقع الاصفر للجعضيض
- Sowthistle yellow vein V. فيروس اصفرار العرق
- Strawberry crinkle V. فيروس تجعد الفراولة
- Raspberry crinkle V. فيروس تجعد الراسبرى
- Lucerne enation V. فيروس الزوائد فى البرسيم

٢ - فيروسات تنتقل بواسطة نطاط الورق Leafhopper trans V.

- Potato yellow dwarf V. فيروس اصفرار وتقرم البطاطس
- Maize mosaic V. فيروس موزيك الاذرة
- American wheat striate mos. V. فيروس التخطيط فى القمح الأمريكى
- Rice transitory yellowing V. فيروس اصفرار الارز
- Northern cereal mos. V. فيروس موزايك الحبوب الشمالية
- Barley yellow striate mos. V. فيروس تخطيط الشعير
- (Russian) Winter wheat mos. V. فيروس القمح الشتوى الروسى
- Digitaria striate V. فيروس التخطيط
- Oat striate V. فيروس التخطيط فى الشوفان
- Cereal chlorotic mottle V. فيروس التبقع الملون فى الحبوب

- Wheat chlorotic streak V. فيروس التخطيط فى القمح
- Babone disease V. فيروس البابون
- ٣ - Viruses with no known vector فيروسات تنتقل بواسطة نواقل غير معروفة
- Eggplant mottle dwarf V. فيروس التقزم والتبقع فى الباذنجان
- Gompherena V. فيروس المدنة
- Soncus V. فيروس سونكس
- Cynara V. فيروس السيناريا

وقد اشتملت العائلات (الفصائل) الفيروسية على المجموع التالية :
(ملخص العائلات الفيروسية ، وما تشمله من مجاميع فيروسية) :

١ - بروموفيريدي : Bromoviridae

Alfamo V. gr. Cucumo V. gr. Bromo V. gr. Ilar V. gr.

مجموعة الأ - مجموعة برومو - مجموعة كيو كومو - مجموعة الفامو

٢ - بوتى فيريدي : Potyviridae

Poty V. gr. - Bymo V. gr. - Rymo V. gr.

مجموعة ريمو - مجموعة بايمو - مجموعة بوتى - مجموعة أيبومو

٣ - كوموفيريدي : Comoviridae

Como V. gr. - Nepov. gr. - Faba V. gr. . مجموعة كومو . مجموعة نيبو - مجموعة فابا

٤ - سيكوى فيريدي : Sequiviridae

٥ - تومباس فيريدي : Tombusviridae

Tombus V. gr. - Carmo V. gr. مجموعة كارمو - مجموعة تومباس

٦ - جيمنى فيريدى : **Geminiviridae**

Gemni V. gr. مجموعة جيمنى

٧ - بارتيتى فيريدى : **Partitiviridae**

Cryptovirus group مجموعة كريبتوفيروس

٨ - بونى فيريدى : **Bunyviridae ssRNA**

Tospo V. gr. - Bunya V. gr. مجموعة توسبو - مجموعة بونيا

٩ - أما النجاميع التالية فلم تقسم بعد إلى عائلات (فصائل) :

مجاميع فيروسات النبات بناء على الكريبتوجرام ، والتي لم تشملها العائلات .

1. Caulimovirus (Cauliflower mosaic virus group)

[D/2: 4/16: S/S: S/VE/AP]

2. Luteovirus (Barley yellow dwarf virus group)

[R/1: 2/*: S/S: S/VE/AP]

3. Tymovirus (Turnip yellow mosaic virus group)

[R/1: 1.9-2.3/36: S/S: S/VE, CL]

4. Carlavirus (Carnation latent virus group)

R/1: 1.1; 0.8; 0.7 and 0.3: U/U: S/C, VE/AP]

5. Potexvirus (Potato virus x group)

[R/1: 2.1/6: E/E: S/O]

6. Tobamovirus (Tobacco mosaic virus group)

[R/1: 2/5: E/E: A,S/O, C,VE/ (FU)]

7. Tobravirus (Tobacco rattle virus group)

[R/1: 2.3 and (0.6-1.3): R/R: S/C, VE/NE]

8. Closterovirus (Beet - yellows virus group)
[R/1: 2.3-4.3/5-6: E/E: S/VE/AP]
9. Hordeivirus (Barley stripe mosaic virus group)
[R/1: 1.4; 1.2 and 1.1: E/E: S/C,*]
10. Pea enation mosaic virus group
[R/1: 1/7 and 1.4: S/S: SVE/AP]
11. Tobacco necrosis virus group
[R/1: 1.5/19: S/S: S/VE/FU]
12. Alfalfa mosaic virus group
[R/1: 1.1; 0.8; 0.7 and 0.3; U/U: S/C, VE/AP]
13. Furo virus group [Soil borne wheat mosaic virus]
[R/1: 2.28 - (0.86-1.23)/ 5:E/E: S/F]
14. Dianthovirus group (Dianthus ringspot virus group)
[R/1: 1.5-0.5*: S/S: S/O]
15. Tenuvirus group (Rice stripe virus group)
16. Marapivirus group (Maize rayadofino virus group)
[R/1: */*: */*: */*]
17. Capillovirus group (Potato virus T group)
[R/ 1: 2.5. S: F/ E: S/O]
18. Parsinip yellows fleck virus group
[R/1: 3/42: S/S: S/Ap]
19. Badnavirus group (Commelina yellow mottle virus)
[D/2:
20. Viroid virus group (Potato spindle tuber viroid)

مجاميع فيروسات النبات : Plant Virus Groups

١ - مجموعة كارلا فيروس : *Carla virus: (Carnation latent virus group) R/I/5:*

E/E: S/AP

الفيروس الممثل للمجموعة فيروس القرنفل الكامن *Carnation Latent virus*

الصفات الأساسية :

حمض ريبيونيكليك خيط مفرد مطاطاً قليلاً، عصوى. سيمترية حلزونية بقطع *pitch* ٣,٤ نانومتر، الفيريون طوله ٦٢٠-٦٩٠ نانومتر، الحرارة المثبطة ٥٥-٧٠م - البقاء حافظاً لتأثيره المعدى بعض أيام قليلة، التركيز فى العصير ٢٠-١٠ ملليجرام / لتر.

تظهر مظاهر إصابة قليلة أو متخفية، مجاله العوائلى ضيق، ربما يكون له ناقل حشرى من المن، الفيروس باق أقل من ٢ ساعة فى المن المغذى، ينتقل ميكانيكياً، العلاقة السيروولوجية بين أفراد القسم بعيدة.

فيروسات أخرى بالمجموعة:

Cactus Virus 2

١ - موزايك الصبار رقم ٢.

Chrysanthemum V. B

٢ - فيروس الكريزانتيم ب.

Passiflora Latent V.

٣ - فيروس باسيفلورا.

Pea Streak V.

٤ - فيروس التخطيط فى البسلة.

Potato M. Virus

٥ - فيروس م البطاطس.

Potato S. Virus

٦ - فيروس س البطاطس.

Red Clover vein Mos. V.

٧ - فيروس موزايك عرق البرسيم الاحمر.

Caulimo virus group

٢ - مجموعة كوليموفيروس:

مجموعة فيروس موزايك القرنبيط *Cauliflower mosaic virus group*

الفيروس الممثل للمجموعة: فيروس موزايك القرنبيط Cauliflower mosaic virus

D/2: 5/15: S/S: S/Ap

سلالة الكرنب س Cabbage Strain S

الصفات الأساسية للمجموعة

حمض النواة ديزوكسي، مزدوج، وزنه الجزيئي حوالي 1.0×10^6 ، ٤٣٪ - جزيئات كروية isometric بقطر حوالي ٥٠ نانومتر وحوالي ٢٢٠ س (220s)، لا توجد جزيئات أخرى ac-cessory، درجة الحرارة المؤثرة ٧٥-٨٠م، البقاء في العصير أيام قليلة، التركيز في العصير ١٠-١٠٠ ملليجرام / لتر، مظاهر الإصابة الموزايك والتبقع. مجال عوائل ضيق، ينتقل بالمل، يظل بالمل بعض ساعات بعد التغذية، وينتقل أيضاً ميكانيكياً، توجد علاقة سيروولوجية بين أفراد المجموعة.

فيروسات تتبع المجموعة:

فيروس موزايك الداليا Dahlia mosaic virus (D) /*: /*: S/S: S/Ap

٣ - مجموعة بوتيكس فيروس Potex virus Gr. CR/1: /*6: E/E: S/O,

(Potato virus X)

مجموعة فيروس موزيك X البطاطس (Potato virus X)

الفيروس الممثل للمجموعة هو - فيروس X البطاطس R/1: /*6: E/E: S/O,

الصفات المميزة للمجموعة:

يحتوى حوالي ٦٪ حمض النواه ريبوز، قضبان مرنة، سيمترية حلزونية بقطع pitch ٣, ٤ نانومتر، الجزيئات المعدية تحتوى حوالي ١١٨ س 118 وحوالي ٤٨٠-٥٨٠ نانومتر طول، الحرارة المؤثرة ٦٥-٧٥م، البقاء في العصير، تركيزه في العصير ٥٠٠ ملليجرام / لتر، مظاهر الإصابة غالباً الموزايك، التبقع والبقع الحلقيّة، المجال العوائلي محدود بقدر ما، ينتشر ميكانيكياً، علاقة سيروولوجية بعيدة بين أفراد المجموعة.

فيروسات أخرى تتبع المجموعة:

١ - فيروس X الصبار. Cactus X. Virus

٢ - فيروس الموزايك الأصفر فى البرسيم. Clover yellow mos. V.

٣ - فيروس النقطة الحلقية فى الهيدراونجا. Hydrangea ringspot V.

٤ - فيروس موزايك البرسيم الأبيض. Whit clover mos. V.

فيروسات يحتمل أنها ضمن المجموعة:

١ - فيروس تقزم والتفاف الخرشوف. Artichoke early dwarf V.

٢ - فيروس الموزايك العادى فى الكاسافا. Cassava common mos V.

٣ - فيروس سيمبيديوم موزايك Cymbidium mosaic virus

٤ - فيروس موزايك النرجس. Narcissus mos. V.

٥ - فيروس موزايك الباباظ. Papaya mos. V.

٦ - فيروس اكيوبا موزايك البطاطس. Potato aucuba mos. V.

٤ - مجموعة توبامو فيروس: Tobamo virus

(Tobacco mosaic virus)

الفيروس ممثل المجموعة هو فيروس موزايك الدخان R/1: 2/5: E/E: S/O

الصفات الأساسية للمجموعة:

تحتوى على حوالى ٥٪ حمض النواة ريبوز مفرد، وزنه الجزيئى حوالى ٦١٠X٢ جزيئاً مستقيمة أسطوانة حوالى ١٩٠ 190s، سيمترية حلزونية بأجزاء (قطع) حوالى ٣٠٠ نانومتر، درجة الحرارة المؤثرة أكبر من ٩٠°م، مدة البقاء محتفظاً بحيويته فى العصير هى سنين، التركيز فى العصير غالباً أكبر من ١ ملليجرام / لتر، مظاهر الإصابة هى للموزايك

فيروسات النبات

والتبقع، ينتشر ميكانيكياً، النواقل الحشرية غير معروفة، توجد علاقة سيبرولوجية بين أفراد المجموعة.

فيروسات أخرى تنتمي للمجموعة:

١ - فيروس التبقع الأخضر فى الموزايك فى الخيار. Cucumber green motile V.

٢ - فيروس النقطة الحلقيه فى أدونتوجلوسوم. Odontoglossom ingspot V.

٣ - فيروس موزايك فى الرايب جراس. Ribgrass mos, V.

٤ - فيروس الأباتيا. Sammons opuntia V.

٥ - فيروس السن هيب. Sun hip mos V.

٦ - فيروس موزايك الطماطم. Tomato mos. V.

٥ - مجموعة توبرا فيروس Tobra virus

الفيروس يمثل المجموعة هو: فيروس قرقة الدخان (Tobacco rattle virus)

$$R/1: \frac{2.3}{5} + \frac{0.9}{5} : E/E: S/C, Ve/Ne$$

الصفات الأساسية للمجموعة:

الفيريونات مستقيمة: جزيئات أنبوبية مستقيمة، ذات سيمترية حلزونية، الوزن الجزيئى للوحدات subunits ٢٤,٠٠٠، يوجد شكلان من الجزيئات (أ) طولها ١٨٠-٢١٠ نانومتر، معدية حوالى ٣٠٠ (300s) تحتوى حمض ريبيونيكلييك، وزنه الجزيئى ٢,٤ X ٦١٠، (ب) وحدات نيوكليوبروتين بطول طبقاً للسلسلة والبروتين المغلف وزنه الجزيئى ٢٠,٠٠٠.

درجة الحرارة المؤثرة ٧٠-٨٠°م، البقاء فى العصير نشطاً لبضعة أشهر، التركيز فى العصير عادة ٢٠-١٠٠ ملليجرام / لتر. مظاهر الإصابة غالباً نيكروزيس، لها مجال عوائل واسع.

الانتقال ميكانيكي كذلك بالنيماتودا *Paratrichodorus* and *Trichodorus* sp.

باقى لأسابيع فى النيماتودا. القرابة السيروولوجية بين أفراد المجموعة متباعدة.

فيروسات أخرى:

Pea early-browning virus فيروس التلون البنى المبكر فى البسلة

٦ - مجموعة تيموفيروس: *Tymovirusgr*

R/1: 2/36: S/S: S/CI

مجموعة فيروس الموزيك الاصفر فى اللفت (*Turnip yellow mosaic virus*)

الصفات الأساسية للمجموعة:

الفيروسات جزيئات متناظرة بقطر ٣٠ نانومتر وحوالى ١١٠ (110s) تحت الوحدات البروتينية ١٨٠ فى عناقيد خماسية، سداسية، الوزن الجزيئى لتحت الوحدة حوالى ٢٠,٠٠٠، الجزيئات المساعدة ٥٠ (50s) عبارة عن كبسولات بروتينية فارغة، دون حمض النواة ريبو.

الجينوم جزئى واحد من حمض ريبوكليك مفرد بوزن جزيئى حوالى ١٠ X ٦١٠، ومحتوى عالٍ من حمض cytidylic (حوالى ٤٠٪).

الحرارة المؤثرة عادة ٧٠-٩٠م، البقاء فى العصير نشطاً بضع أسابيع قليلة، والتركيز فى العصير ٥٠٠-٥٠٠ ملليجرام / لتر.

مظاهر الإصابة هى الموزايك والتبقع، المجال العوائلى ضيق، الناقل الحشرى هو الخنافس ويظل فى الخنافس عدة أيام، ينتقل أيضاً بالحقن بالعصير - توجد علاقة سيروولوجية بين أفراد المجموعة.

فيروسات تتبع المجموعة:

١ - فيروس انديان البطاطس المتأخر (الكامن) *Andean potato latent virus*

- ٢ - فيروس تبقع البلادونا Belladonna mottle V.
- ٣ - فيروس الموزايك الاصفر فى الكاكاو Cacao yellow mos. V.
- ٤ - فيروس اصفرار عرق الكلكتوريا Clitoria yellow vein virus
- ٥ - فيروس التبقع الاصفر فى الدسموديوم Desmodium yellow mottle virus
- ٦ - فيروس تبقع الديكامورا Dulcamora mottle virus
- ٧ - فيروس موزايك الباذنجان Eggplant mosaic V.
- ٨ - فيروس الارستيم المتأخر Erysimum latent virus
- ٩ - فيروس الموزايك الاصفر فى الكينيدريا Kennedya yellow mosaic virus
- ١٠ - فيروس موزايك الباميا Okra mos. V.
- ١١ - فيروس الموزايك الاصفر فى البصل Onions yellow mos. V.
- ١٢ - فيروس موزايك الفيساليس Physalis mos. V.
- ١٣ - فيروس موزايك الخيار البرى Wild cucumber mos. V.

٧ - مجموعة كلوستيرو فيروس: Clostero virus gr

R/1: 2.3-4.3/5-6: E/E: S/Vel/Ap

تمثل المجموعة - فيروس اصفرار البنجر (Beet yellows virus)

الصفات الأساسية للمجموعة :

الفيروسات عصبية مرنة جداً ذات سيمتريه حلزونية بقطع ٧,٣ نانومتر. طوله يتراوح بين ٦٠٠-٢٠٠٠ نانومتر.

الجينوم عبارة عن حمض النواة ريبوز مفرد، وزنه الجزيئى ٢,٣-٤,٣ × ١٠^٦، درجة الحرارة المؤثرة ٤٥-٥٥ م وحدة البقاء فى العصير أيام قليلة، وتركيزه فى العصير ٤٠-١٠٠ ملليجرام / لتر.

فيروسات النباتات

مظاهر الإصابة على الأوراق : هي الاصفرار مع نقط نيكروزيسية . المجال العوائلي متوسط دائماً ما تتجمع الجزيئات العصبوية فى كتل حزمية متقاطعة فى خلايا اللحاء . بعض الفيروسات تنتقل بالمن، وتنتقل بالحقن بالعصير بصعوبة .

لا توجد قرابة سيروولوجية بين الأفراد .

فيروسات تنتمى للمجموعة :

Beet yellow Stunt V. ١ - فيروس اصفرار وتقزم البنجر

Carnation necrotic fleck virus ٢ - فيروس نيكروزيس القرنفل

Citrus Tristeza V. ٣ - فيروس التدهور السريع فى الموالح

Festuca necrosis virus ٤ - فيروس نيكروزيس الفستوكا

Wheat yellow leaf V. ٥ - فيروس اصفرار ورقة القمح

فيروسات يحتمل انتماءها للمجموعة :

Apple stem grooving V. ١ - فيروس الساق ذو الخندق فى التفاح

Apple Chlorotic Leafspot V. ٢ - فيروس النقط الورقية الصفراء فى التفاح

٨ - مجموعة هوردي فيروس : *Hordeivirusgr*

hordei: from latin hordeums "barley"

الفيروس الممثل للمجموعة هو فيروس التخطيط فى الشعير

R/1: 1.4-1.2-1.1/4: E/E: S/C Barley stripe mosa-

ic virus

الجزيئات مستقيمة أنبوبية ٢٠ - ٢٥ نانومتر قطر، ١١٠-١٦٠ نانومتر طول ذات سيمتري حلزونية بقطع طولها حوالى ٢,٥ نانومتر.

فيروسات الذببات

الجينوم يتكون من حمض النواة ريبوز، مفرد به أشكال عديدة على الأقل ٢ أو ٣ محتويات حمض باوزان جزيئية، تتراوح بين حوالى $10^6 \times 1,5 - 10^6 \times 1$ تؤدي للإصابة. درجة الحرارة المؤثرة ٦٣ - ٧٠م، البقاء فى العصير أيام قليلة أو أسابيع، مظاهر الإصابة الإصابة على الورقة، هى: موزايك مصفر أو مصحوب بنكروزيس. المجال العوائل ضيق بعض الشئ.

ينتقل بعض أفراد المجموعة خلال البذور وحبوب اللقاح، بالحقن بالعصير لا يعرف ناقل حشرى، تباعد فى الخواص السيروولوجية لأفراد المجموعة.

فيروسات تتبع المجموعة:

١ - *Poa semilatent virus*

٢ - *Luchnis ringspot V.*

٩ - مجموعة ليوتى فيروس: *Luteovirus gr*

R/1: 2/4: S/S: Vc/Ap

مجموعة فيروس تقزم واصفرار الشعير *gr* (Barley yellow dwarf virus)

Luteo: From latin Luteus "Yellow" from yellowing symptoms

تسمية لوتيو مأخوذة من اللغة اللاتينية حيث قضى الاصفرار.

الصفات الأساسية للمجموعة:

الفيريونات عبارة عن جزيئات متناظرة ١١٥-١١٨ (115-118 s)، ويقطر حوالى ٢٥ نانومتر، الجينوم هو جزيئ واحد من حمض النواة، ريبو مفرد بوزن جزيئى $2,0 \times 10^6$.

درجة الحرارة المؤثرة ٦٥-٧٠م - التركيز فى العصير عادة أقل من ١٠٠ ملليجرام / لتر ينتقل خلال المن، فيروس باق، للسلاسل الفيروسية تخصص فى اختيار الناقل لا تنتقل بالحقن بالعصير.

بعض أفراد المجموعة له علاقة سيروولوجية .

فيروسات تتبع المجموعة :

- ١ - فيروس التواء ورقة الفاصوليا
Bean Leaf - roll V.
- ٢ - فيروس الاصفرار الخفيف في الفاصوليا
Bean mild yellowing V.
- ٣ - فيروس احمرار ورقة الجزر
Carrot red leaf V.
- ٤ - فيروس احمرار انتوسياثين القطن
Cotton anthocyanosis V.
- ٥ - فيروس احمرار ورقة الفلاريا
Filaree red Leaf V.
- ٦ - فيروس الكلوروسيس الخفيف في الفيليس
Physalis mild chlorosis V.
- ٧ - فيروس التواء أوراق البطاطس
Potato leaf roll V.
- ٨ - فيروس الاصفرار الخفيف لحواف أوراق الشليك
Strawberry mild yellow edge V.
- ٩ - فيروس تقزم البرسيم
Subterranean clover stunt virus
- ١٠ - فيروس تشوه عرق الدخان
Tobacco vein distorting V.
- ١١ - فيروس اللفت المتأخر
Turnip latent V.
- ١٢ - فيروس اصفرار اللفت
Turnip yellows V.

١٠ - مجموعة فيروس الموزايك والنموات الزائدة في البسلة

Pea enation mosaic virus group:

مجموعة من شكل واحد

الفيروس يمثل المجموعة :

فيروس الموزايك والنموات الزائدة في البسلة Pea enation mosaic virus

R/1: 1.7-1.4/29: S/S: S/Ve/Ap

الصفات الأساسية للمجموعة هي:

الفيريونات عبارة عن جزيئات أيزومترية بقطر ٩٠، ٢٨ نانومتر، و ١١٥ (1/5s)، وتحتاج جزيئات الشككين للعدوى. تحت الوحدة البروتينية ذات وزن جزيئي حوالى ٢٢,٠٠٠، الجينوم الثنائي Bipartite يعمل كمكمل بين شككين من حمض النواه ريبوز باوزان جزيئية ١,٧، ٤، ١٠ X ٦١٠، ويوجد شكل ثالث من الحمض بوزن جزيئي ٣,٠ X ٦١٠ مع بعض الأصناف.

الحرارة المؤثرة ٥٥-٦٠م، البقاء فى العصير أيام قليلة، التركيز فى العصير عادة ٥-٢٥ ملليجرام / لتر.

مظاهر الإصابة التبقع والنموات الزائدة - المجال العوائلى ضيق.

ينتقل بالمن، يظل بالمن أسابيع، ينتقل بالحقن بالعصير.

١١ - مجموعة فيروس نيكروزيس الدخان Tobacco Necrosis virus group

الفيروس الممثل للمجموعة هو - فيروس نيكروزيس الدخان

(سلالة أ) Tobacco necrosis virus (Strain A)

R/1: 1.5/19: S/S: S/Ve/Fu.

الصفات الأساسية للمجموعة:

الفيريونات عبارة عن جزيئات أيزومترية بقطر حوالى ٢٨ نانومتر، وسرعة ترسيب ١١٨ س تحت الوحدات البروتينية، وزنها الجزيئي حوالى ٢٣,٠٠٠.

الجينوم خيط مفرد من حمض النواه ريبو بوزن جزيئي حوالى ١,٥ X ٦١٠

درجة الحرارة المؤثرة ٦٥ - ٩٥م - البقاء فى العصير حتى أشهر قليلة - المجال العوائلى متسع، ينقله فطر أولبيديوم Olpidium، ويحتمل بقاءه فى الجراثيم Zoospore الزيجية لبضع ساعات ينتقل بالحقن بالعصير.

توجد علاقة سيولوجية بين افراد المجموعة.

فيروسات أخرى تتبع المجموعة:

١ - فيروس نيكروزيس الدخان (سلالة د) Tabacco necrosis V. (str d.)

فيروسات يحتمل أنها تتبع المجموعة:

١ - فيروسات نيكروزيس الخيار Cucumber necrosis V.

١٢ - مجموعة فيروس موزيك البرسيم (الفالفا)

Alfalfa mosaic virus group;

R/1: 1.1-0.8-0.7- 0-3/16: U/U: S/C, Ve/ Ap.

الفيروس الذي يمثل المجموعة هو:

Alfalfa mosaic virus

الصفات الأساسية للمجموعة:

الجزئيات على الأقل أربعة أشكال، ثلاث عصبية baciliform بأبعاد ١٨×٥٨، ١٨×٤٨، ١٨×٣٦ نانومتر، وواحد دائري بقطر ١٨ نانومتر، سرعة الترسيب ٩٩، ٨٩، ٧٣، ٦٨ على التوالي. الكل يحتوى على خيط مفرد من حمض نوأ ريبوز. وغلاف واحد بروتين ٢٤٥٠٠ دالتون.

الجينوم المجرأ بأحد من الثلاث أشكال الكبيرة أو الأربعة، تحتاج إلى حمض نوأ ريبوز، درجة الحرارة المؤثرة ٦٠-٧٠ - البقاء في العصير أيام قليلة - التركيز في العصير ٢٠-٥٠ مجم / لتر - مظاهر الإصابة التبقع والموزايك والنقطة الحلقية - ذو مجال عوائل متسع.

ينتقل بالمن. يظل بالمن أقل من ساعتين - ينتقل بالحقن بالعصير - ينتقل خلال البذور.

مجموعة فيروس اصفرار اللفت Parsinip yellow fleck V. gr.

الفيروس الممثل للمجموعة Parsinip yellow fleck V.

جزئى واحد من الحمض ssRNA موجب ذو وزن جزيئى 3.5×10^6 ثلاثة أنواع رئيسية من البروتين، ذات وزن جزيئى $22.5 - 26 - 31 \times 10^3$ جزيئات أيزومترية قطرها 30 نانومتر.

توجد محتويات داخلية فى الخلايا المصابة ملاصقة للنواة، تحتوى على تركيبات وعائية وأنابيب مستقيمة قطرها 30 نانومتر.

الجمال العوائلى ضيق يسبب تبقعاً وموزايك، وفى بعض الأنواع ذبولاً وموتاً، ينتقل بالحقن الميكانيكى - بالمن كنصف باق بالاشتراك مع فيروس مساعد Helper.

مجموعة كابيللو. *Capillivirus gr.*

الفيروس الممثل للمجموعة *Potato V. T.* الحمض ssRNA جزئى واحد مستقيم، وزنه الجزيئى 2.5×10^6 بنسبة 5%، جزيئات خيطية مرنة أبعادها 12×640 نانومتر ذات سيمترية حلزونية المجال العوائلى محدود (نفق ساق التفاح) *Apple stem grooving V.* الناقل غير معروف - تنتقل عن طريق التطعيم وبالحقن الميكانيكى بالعصير.

مجموعة مارافى. *Marafi V. gr.*

وكان اسم الفيروس الممثل للمجموعة *Maize raydo fino V.*

الفيروس كروى ss-RNA.

مجموعة تينيو فيروس. *Tenu V. gr.*

وكان اسمها *rice stripe V. gr.* ويشمل *Rice hoja blanca* الفيروس خيطى متفرع ssRNA.

- مجموعة فيورو فيروس. *Furo V. gr.*

ssRNA يحتوى على جزيئين (ثنائية الجينوم) تنتقل بالفطريات، وكانت سابقاً ضمن *Tobomo. V. gr.* ومنها:

- Soil born wheat V.

Peanut clump V.

Potato mop top V.

شكلها عصوي Rod shope تشبه Tobamo V.

مجموعة بادنا فيروس : Badma V. gr.

وتشتمل على فيروسين:

Rice Tungro Bacilliform V.

Rice Tungro Sphericol V.

الكروى بقطر حوالى ٣٠ (والانيوس بمقياس ١٦٠ - ٢٢٠ X ٣٠ - ٣٥ نانومتر كان مع مجموعة Commellina yellow mottle V. gr.، والذي اشتق منه اسم بادنا) حمض نووى ssRNA.

مجموعة : Diantho V. gr.

تشتمل هذه المجموعة على ثلاثة أعضاء: العضو الاساسى Carnation Ring spot V. فيروس البقع الحلقية فى القرنفل. V. Sweet Clover necrotic m. (CRSV)، وفيروس نيكروزيس وموزيك البرسيم الحلو. V. Red clover necrotic m. (SCNMV)، وفيروس نيكروزيس وموزايك البرسيم الاحمر (RCNMV) الثلاثة فيروسات ثابتة وبتركيز عالٍ فى النبات المصاب ١٥٠ - ٣٠٠ ملليجرام / كيلو جرام نسيج مصاب.

الباب الخامس

**تنقية فيروسات النبات
وخواصها الطبيعية والكيميائية**

**PURIFICATION OF PLANT VIRUSES
& ITS PHYSICAL AND CHEMICAL
PROPERTIES**

تنقية فيروسات النبات وخواصها الطبيعية والكيميائية

PURIFICATION OF PLANT VIRUSES & ITS PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

لدراسة التركيب وغيره من الصفات الأساسية للفيروس، فمن الضروري الحصول عليه في صورة نقية مع المحافظة على قدرته على العدوى. وتتفاوت الفيروسات النباتية تفاوتاً كبيراً فيما بينها في حدود ١٠,٠٠٠ ضعف في كمية الفيروس، التي يمكن استخلاصها من الأنسجة المصابة (من حوالي ٤ إلى ٤٠٠٠ ميكروجرام/ جرام وزن طازج) كما تتفاوت الفيروسات فيما بينها تفاوتاً كبيراً من حيث الثبات Stability أو تحمل عديد من العوامل الطبيعية والكيميائية والإنزيمية، التي يمكن أن يتعرض لها الفيروس خلال عملية الفصل والتخزين، ومن أجل ذلك لا توجد قواعد ثابتة لعملية الفصل بالنسبة لكل الفيروسات، حيث إن الطريقة التي تؤدي إلى نتائج جيدة بالنسبة لفيروس ما يمكن أن تفشل تماماً مع فيروس آخر قد يكون متشابهاً مع الأول.

الفصل الأول

تنقية الفيروس

PURIFICATION OF VIRUSES

المقصود بالتنقية أنها عملية ينتج عنها زيادة في نشاط التحضيرات الفيروسية وهذا يترجم إلى زيادة الوحدات القادرة على الإصابة لوحدة الوزن للمادة (عادة البروتين أو النيتروجين).

ومن المعروف أنه يتكون داخل الخلايا المصابة مواد غريبة غير الجزيمات الفيروسية أو الحاملة لصفة العدوى، مثل:

١ - أشكال خيطية (Filamentous) وأشكال غير كاملة كما في فيروس الأنفلونزا، حيث يظهر بها أن جزيئات الفيروس غير متماثلة Heterogenous.

٢ - جزيئات غير معدية، ولكن لها صفة الانتجين الفيروسي Antigenic specificity.

٣ - جزيئات صغيرة تسمى أنتجيناً ذائباً Soluble antigen لا ترسب تحت ظروف ترسيب الفيروس. وقد عرف أنها توجد في كثير من فيروس الحيوان.

٤ - جزيئات غير معدية من حجم الفيروس نفسه، كالتى وجدت في حالة الإصابة بفيروس موزايك اللفت Turnip yellow m.v.

والمحتويات السابقة التى توجد فى العائل المصاب وتحتوى على بعض خواص الفيروس (صفة الانتجين) ليست لها القدرة على العدوى، وتكون ذات وضع مختلف. وتنفصل مثل هذه المواد بواسطة الطرق الطبيعية أو الكيميائية.

والتحضير النقى فى عرف الكيمياء الطبيعية عبارة عن تحضير يحتوى على مكون واحد متجانس، ويكون كل جزء فيه أو كل وحدة منه مكونة من جزيئات موحدة التركيب الكيميائى، إلا أن مثل هذا التعريف لا يجد قبولاً عند رجال البيولوجى خاصة رجال

الوراثة إذ إنهم يعتقدون أن التحضير النقي، هو الذى لا يمكن فيه فصل صفة العدوى عن الجزيئات الموجودة، والذى لا يتميز فيه وجود المحتويات غير الفيروسية، ولكن مثل هذا التعريف يترك مجالاً للاختلافات الكيميائية الطبيعية خاصة فى مورفولوجى الفيروسات الكبيرة المعقدة وخاصة الجزيئات غير المميزة والطفرات، التى توجد بكل تأكيد فى أعداد كبيرة.

وعلى العموم فيمكن الخروج من هذا الجدل وتعريف التنقية بأنها تحضير للمادة، التى تحمل النشاط الفيروسي فى شكل خالص بقدر الإمكان من المادة التى لا تحدث إصابة.

لقد بدأ العمل الأول فى التنقية *Original work* على فيروس النبات، حيث إنه يمكن الحصول عليه بكميات كبيرة، وللسهولة النسبية فى فصله عن محتويات النبات. ويعتبر فيروس موزيك الدخان مثلاً لذلك، حيث استعمل بكثرة لزيادة الكمية التى يمكن الحصول عليها، وهى ١٠٪ من الوزن الجاف للنبات المصاب، ويمكن تنقيته دون انخفاض ملحوظ فى صفة العدوى، كما أنه يمكن الحصول على محلول متجانس منه.

ولقد بدأت محاولات عزل وتنقية فيروس موزيك الدخان من عصير النباتات بواسطة Mulvania, 1926, Vinson and Pirie, 1928, 1931، والذين اكتشفوا أن فيروس موزيك الدخان يمكن ترسيبه بمرسبات البروتين، دون أن يفقد قدرته على إحداث العدوى.

وقد أثار هذا الاكتشاف قليلاً من الاهتمام إلى أن جاء Stanley, 1935 وعزل فيروس موزيك الدخان TMV على هيئة بروتين متبلور. ومن هنا بدأ وضع طرق أخرى يمكن بواسطتها تنقية فيروس موزيك الدخان وعديد من الفيروسات الأخرى، ومنذ هذا الوقت احتلت دراسة التحضيرات النقية مكانة كبيرة فى أبحاث الفيروس. وتعطى هذه الطرق تحضيرات قادرة على العدوى لبعض الفيروسات.

ويمكن الوصول إلى التنقية اللازمة باتباع طرق تفصل إما المواد الغريبة وإما الفيروس من المخلوط، أو تفصل المخلوط إلى محتويات مختلفة *Various fractions*، والذى منها واحد أو أكثر يحتوى الفيروس.

وعملياً فلا توجد عملية واحدة يمكن بواسطتها فصل الفيروس كلبية عن المواد الأخرى من المخلوط البيولوجى .

ويمكن تلخيص عمليات التنقية بالنسبة للفيروسات المختلفة فى النقاط التالية :

١ - استخلاص المحلول الخام (العصير) المحتوى على الفيروس من نسيج العائل Extraction .

٢ - ترويق العصير Clarification .

٣ - الحصول على الفيروس Purification .

إن تكرار بعض العمليات السابقة عمل مرغوب، حيث إن المواد الغريبة يصعب فصلها عن الفيروس بإجراء العملية مرة واحدة، فاستعمال أكثر من عملية يعطى فرصة أفضل للتخلص منها .

وهناك قواعد مهمة يجب ملاحظتها عند تنقية بروتين ما، وأهمها :

١ - معرفة درجة ثبات البروتين (الفيروس) Stability لدرجات حرارة مختلفة و لدرجات pH مختلفة .

٢ - فى أى المذيبات (غير الماء) يمكن أن يترسب البروتين دون تغيير فى خواصه .

وعلى ضوء هاتين النقطتين سنناقش باختصار العمليات المختلفة Procedures لتنقية بروتين الفيروس .

أولاً: استخلاص المحلول الخام (العصير) : Sap Extraction

تختلف وسائل استخلاص العصير الخام باختلاف طبيعة الإصابة الفيروسية والخلايا التى يوجد بها، وما إذا كان الفيروس موجوداً داخل خلايا فردية طليقة، مثل الملتصقات فى البكتريات، أو داخل خلايا سطحية فى الجلد أو بشرة النبات، مثل الفيروسات التى تحدث البثرات والثآليل الجلدية فى أمراض الجدري والحصبة والحمى القلاعية، أو تلك التى تحدث أضراراً واضحة فى أوراق النباتات .

أما إذا كانت الإصابة غائرة فى أنسجة داخلية كأمراض التبغ والإصفرار وتجعد الأوراق

فى النباتات فإن هذا يتطلب استخراج المحلول الخام من هذه الانسجة.

يبدأ بعمل مستخلص من خلايا الأنسجة التى تحتوى على الفيروس المطلوب. ويفضل أن تتم هذه العملية على درجة حرارة منخفضة ٢-٥ م، وفيها تكسر الخلايا بطرق عدة، منها:

١ - التجميد والإذابة Freezing & Thowing حيث توضع الأوراق المصابة على درجات حرارة منخفضة تصل إلى التجميد لعدة ساعات، تعرض بعدها للجو العادى، وبهذه العملية تنهتك جدر الخلايا ويسهل استخراج العصير.

٢ - الطحن Grinding وفيها تطحن الأنسجة فى هاون معقم.

٣ - الرج مع كتل زجاجية Shaking with glass beads.

٤ - الفرغ Mincing مثل الفرغ بالمفرمة Meat mincer.

٥ - الفصل بواسطة الموجات الصوتية Disintergating with Sonic waves.

ويستخرج العصير بواسطة عصر الأوراق المهروسة وتصفيها Squeeze خلال قطعة شاش Cloth bag، وقد لوحظ أن الألياف المتبقية من عملية العصر تحتوى على فيروس قد يكون أكثر مما يحتويه العصير المستخلص، وتحتاج إلى معاملات خاصة لإطلاقه. وأبسط هذه المعاملات هى إعادة طحن الألياف مع قليل من الماء أو محلول منظم ثم عصرها.

وقد وجد Bawden and Pirie, 1944 أن مستخلص الماء لالألياف النباتات المصابة بفيروس TMV, Tobacco necrosis & Tomato bushy stunt يحتوى على فيروس أكثر من الذى يوجد فى العصير المستخلص.

وقد لا يطلق الطحن كل الفيروس المتبقى بالألياف، كما أنه قد يتلف بعضها، ولذلك وجد أنه يمكن الحصول على تركيز عالٍ من الفيروس PVX أو TNV بواسطة تحضين الألياف مع إنزيم Protease or nuclease لعدة ساعات ثم إعادة طحنها خفيفاً وعصرها.

وعموماً فإن النسبة بين الفيروس فى العصير المستخلص والفيروس المتبقى فى الألياف كبيرة وواضحة، وتختلف من فيروس لآخر، ومن طريقة استخراج إلى أخرى.

ولم توجد اختلافات في حجم وشكل الجزيئات الفيروسية لفيروس التقزم الشجيري في الطماطم المستخرج من العصير وذلك المستخرج من الالياف، ولكن وجد أن مستخلص فيروس TMV من الالياف يحتوى على جزيئات أصغر حجماً وأقل في قدرتها على العدوى من الجزيئات الاساسية للفيروس. وكذلك الحال بالنسبة لفيروس PVX.

التغيرات التي تحدث في الفيروس أثناء استخلاصه:

يكون الفيروس الذى يستخلص من الأنسجة الداخلية بالوسائل السابقة عرضة لحدوث بعض تغيرات فى طبيعته على النحو الآتى:

١ - قد يكون العصير المستخلص مع الفيروس من خلايا الأنسجة ذا تأثير مرسب للفيروس، مثل فيروس تجمع الأوراق وفيروس اصفرار حافة الورقة فى الشليك، إذ لا يستطاع استخلاصها من العصير؛ نظراً لاحتواء العصير على كمية من حامض التنيك تكفى لترسيب أجسام الفيروس جميعها، ويرسب معها أيضاً جميع البروتين الموجود فى العصير.

٢ - قد تحتجز بعض محتويات الخلية جزيئات الفيروس أثناء استخلاصها مثل بعض جزيئات البروتين فى المحلول الخام بعد استخلاصه كما قد يدمص أيضاً جدران مسام المرشحات أثناء ترشيحه.

٣ - قد تؤثر عملية استخلاص التحضير على الفيروس نفسه فتفتت أجسامه.

٤ - قد تحدث تغيرات كيميائية فى الفيروس أثناء استخلاصه.

٥ - قد يشمل المستخلص جزءاً فقط من الفيروس الموجود فى النسيج.

ويكون هناك اختلاف لا نعرفه بين الجزء المستخلص والجزء الباقي فى الخلايا، اختلاف فى الطبيعة والتركيب والنشاط. وقد يفقد الفيروس المستخلص قليلاً أو كثيراً من المواد التى تلازم جسمه داخل الخلية، أو قد يختلط ببعض مشتملات الخلية نفسها.

٦ - قد يشمل المحلول الخام أجساماً أخرى غير الفيروس ذات صلة به يكون لها صفاته السيولوجية، ولكنها غير قادرة على العدوى.

ثانياً : ترويق العصير : Clarification

يستعمل الطرد المركزى البطئ لعصير نباتات الدخان المصابة بفيروس موزيك الدخان لإنتاج سائل رائق، حيث إن أغلب مكونات العائل تترسب. ويزيد من كفاءة عملية الترويق حفظ العصير المستخلص لعدة ساعات إما على درجة حرارة المعمل أو فى الثلاجة. كما أن تسخين العصير المستخلص على درجة ٦٠°م يجمع عديداً من مكونات العصير، ويعطى تنقية جيدة، إلا أنها قد تؤثر على حيوية بعض الفيروسات، ولذلك لا تستعمل إلا للفيروسات الثابتة ذات درجة الحرارة العالية لتعيد نشاطها.

قد تستعمل بعض المذيبات العضوية التى تؤدى إلى اختزال الدهون Lipids وتحليل المواد الغريبة البروتينية، ومن هذه المواد: مادة الفلوروكربونات Fluorocarbons، بيوتانول Butanol، كلوروفورم chloroform أو مخاليط من الاثنين الآخرين. ولا تتأثر الفيروسات البسيطة التى تحتوى على نيكليوبروتين ولكن يحصل تجريح disruption وتشبيط inactivation للفيروسات التى تحتوى دهون Lipids.

ثالثاً : ترسيب وتجميع الفيروس : Virus Precipitation & accumulation

إن البروتين وحمض النواة المركبين الأساسيين فى تركيب الفيروس يوجدان أيضاً فى خلايا العائل بكميات أكبر آلاف المرات عن وجودهما فى الفيروس. ولذلك فإن الطرق التى تتبع يجب أن تميز بين البروتين وحمض النواة الخاص بالفيروس ومثيلهما فى خلايا العائل. وتعطى درجة ثبات الفيروس Stability الاعتبار الأول فى هذه العملية.

بخلاف ما سبق تستعمل طرق مختلفة لترسيب الفيروس منها: ما هو كيمائى وما هو طبيعى.

أ - الطرق الكيميائية لترسيب الفيروس:

١ - التمليح Salting-out وهو عبارة عن إضافة أملاح ذائبة بتركيزات مختلفة، مثل كبريتات الأمونيوم أو أملاح الزنك وكبريتات البروتامين. وقد وجد أن الألبومين يترسب عند تشبع ١٠٠٪ بواسطة كبريتات الأمونيوم، أما الجلوبيولين فيترسب عند

تشيع ٥٠٪.

٢ - الترسيب بواسطة الكحولات، وفيها تستعمل بعض الكحولات المنخفضة - Lower alcohols، مثل الميثانول والإيثانول.

٣ - الترسيب عند درجة التاين Isoelectric points، وبواسطتها تمكن Best 1936 من الحصول على مستخلص نقي لفيروس موزيك الدخان، واستعملها آخرون باستعمال حمض الكلورودريك.

ب - الطرق الطبيعية لترسيب الفيروس:

تتوقف عادة على أساس اختلاف حجم جزيئات الفيروسات والمواد الأخرى في معلق العصير. وتستعمل هذه الطرق عادة لتنقية فيروسات النبات غير الثابتة unstable، والتي من السهل تأثرها بعمل الأملاح المركزة أو التغيير الواضح في الـ pH. يستعمل الطرد المركزي بدرجات مختلفة تغيير من دوران بطيء، يزيل بقايا الأنسجة أو التلوث البكتيري إلى دوران سريع يجمع الفيروس ويكتله.

الفيروسات كبيرة الحجم يستعمل لها: دوران مركزي بطيء بمعدل ٣٠٠٠ دورة / دقيقة في دوران أفقي، أو ٤٥٠٠ دورة / دقيقة دوران على زاوية، أما الفيروسات صغيرة الحجم فيستعمل لها دوران مركزي سريع بجهاز يسمى Quality heads تحمل أنابيب مختلفة الحجم كبيرة، ويصلح أيضاً للتنقية Sharpless Centrifuge، والتي تترسب فيها المادة من طبقة رقيقة لسائل يغطي السطح الداخلى لاسطوانة مفرغة تدور.

كذلك يستعمل الطرد المركزي فائق السرعة Ultracentrifuge فمثلاً تنقية فيروس النقط الحلقيّة للدخان Tobacco ring spot virus تجرى على درجات حرارة منخفضة وبالطرد المركزي للعصير المستخلص من الأوراق المصابة، أولاً في آلة طرد مركزي عادية لفصل الأجزاء الغريبة كبيرة الحجم، ثم بعد ذلك بالطرد المركزي ٣٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة تصل إلى ١٥ ساعة، وبذلك يرسب الفيروس على شكل راسب كثيف في قاع الأنبوبة. يحتوى هذا الراسب أيضاً على أجزاء صبغية (صبغات يفصل عنها الفيروس باستعمال ١٠ / ١ ع محلول

فسيولوجى على درجة 7 pH بهذا يعلق الفيروُس فى السائل، وتظل الصبغات فى حالة غير ذائبة، تفصل بواسطة الطرد المركزى المتوسط والسائل العلوى يفصل ويستعمل له الطرد المركزى ultra لمدة ساعة ونصف وهكذا يكرر الدوران البسيط ثم الدوران السريع ultra ثلاث إلى أربع مرات، وبذلك يمكن الحصول على تحضير متجانس من الفيروُس.

كما تستعمل للتنقية طريقة Density gradient centrifuge حيث إن جزيئات الفيروُس تتركز فى طبقات خاصة فى محلول فى الوسط بواسطة الكثافة النسبية density gradient من القمة للقاعدة؛ نتيجة تحضيرات فى محاليل السكروز أو الجليسرول glycerol تختلف كثافتها ولزوجتها، ويمكن رؤية المحتويات Fractions بواسطة الضوء.

كل هذه الطرق تؤدى إلى فصل الفيروسات التى تختلف فى حجمها عن المحتويات غير الفيروسية لمعلق العصير.

هذه الطرق ربما تسبب ضياع بعض الفيروُس إذ يتكون من جزيئات مختلفة الحجم، كذلك يفقد جزء من نشاط الفيروُس خاصة فى آلة الطرد المركزى لعدم الترسب الكلى.

ويمكن أن يبلور الفيروُس فى المحلول النقى الخالى من الصبغات بإضافة محلول 0.5% من حمض الخليك إلى المخلوط، الذى يحتوى على فيروُس موزيك الدخان.

المادة المنقاة بطرق مختلفة يمكن تعريضها لعدد من الاختبارات لدراسة صفاتها وعلاقتها بالنشاط الفيروسى. والمهم فى هذه الدراسة هو مقارنتها بمواد يحصل عليها بالطرق نفسها من عوائل غير مصابة.

والخطوة الأولى هى إثبات أن مثل هذه المواد يمكن عزلها من عوائل مختلفة مصابة بالفيروُس نفسه، ولا يمكن عزل مواد مثلها من عوائل غير مصابة.

وعند إجراء التنقية يراعى الآتى:

أولاً: يجب أن تكون السلالة الفيروسية المستخدمة سريعة التضاعف فى العائل لتعطى تركيزاً عالياً من الجزيئات الفيروسية، وبالإضافة إلى ذلك يجب أن تكون ثابتة من الناحية الوراثية أى لا يحدث فيها طفرات قد تؤدى إلى تغييرها.

ثانياً: يجب عند اختبار العائل المستخدم لزراعة هذه السلالة أو الفيروس أن يكون سهل الزراعة سهل العدوى متمثالاً وراثياً، ويجب أن يكون محتواه من العصير كبيراً مناسباً للسلالة الفيروسية المستخدمة؛ حتى يعطى أعلى تركيز من الجزيئات الفيروسية. يكون النبات خالياً من المواد التي تؤثر على الفيروس، والتي تتعارض مع عمليات التنقية مثل الصبغات والأحماض والإنزيمات المؤكسدة. وتعتبر النباتات الخشبية عادة غير ملائمة لإكثار الفيروسات لوجود نسبة مرتفعة من هذه المواد بها. وإذا كان هناك من الضرورة استخدام هذه النباتات فيجب استخدامها في عمر صغير أو أخذ أزهارها، حيث تعتبر الأزهار في هذه النباتات أنسب الانسجة لاستخلاص الفيروس بكمية كبيرة، وتستخدم غالباً لهذا لغرض النباتات العشبية والحولية حيث تعتبر أكثر ملائمة كمصدر لتنقية الفيروس عن النباتات الخشبية.

ثالثاً: تؤثر العوامل الجوية والبيئية على تركيز الفيروس داخل النباتات العائل، فقد لوحظ أن زيادة تركيز الفيروس في مادة الحقن يعطى تركيزاً عالياً من الفيروس في النبات، كذلك لوحظ أن درجة الحرارة وكذلك الإضاءة لها تأثير كبير على محتوى النبات من الفيروس؛ فالحرارة من أهم العوامل التي تؤثر على تركيز الفيروس، فيصل أعلى تركيز عادة في درجة الحرارة العالية، ولكنه يستمر لفترة قصيرة عنه في حالة الحرارة المنخفضة، وكذلك يتأثر انتشار الفيروس داخل النبات بدرجة الحرارة. ففي درجات الحرارة المنخفضة يكون انتشار الفيروس بطيئاً في النبات العائل، وينتج عن ذلك انخفاض في تركيز الفيروس في العائل.

رابعاً: عند استخلاص الفيروس من النبات العائل، يجب أخذ الاحتياطات الكفيلة حتى لا يحدث تلف للجزيئات الفيروسية في العصير الخام المجهز من النباتات المصابة؛ لأن الفيروس في هذه الحالة يعتبر في وسط مخالف لذلك الذي كان موجوداً عليه في الخلية الحية، ومن أمثلة المواد التي توجد في العصير الخام وتؤثر على الجزيئات الفيروسية Polyphenol، oxidase وهذه يمكن إبطال مفعولها باستخدام Sodium diethyl dithiocarbamate بتركيز ٠,٠١ مولر، وكذلك يؤثر إنزيم Nuclease الموجود في العصير الخام على الجزيئات الفيروسية، ويمكن التقليل من تأثيره بإضافة مادة Bentonite إلى العصير الخام، حيث يوقف

خامساً: يجب اختيار الطريقة المناسبة للتنقية حسب طبيعة الفيروس المراد تنقيته. وبعد إتمام عملية التنقية وقبل التحليل الكيماوى يجب تقدير نقاوة الفيروس، ولا يوجد اختبار كافٍ مفرد للتأكد من هذه النقاوة، ولكننا نتأكد منها بعدة اختبارات. فيستخدم الطرد المركزي لتقدير درجة تجانس تحضير الفيروس، وعلى الأخص حجم الفيروس وكثافة الجزيئات ووجود نقطة ترسيب واحدة تبرهن على وجود نوع واحد من الجزيئات، ووجود منطقتين يدل على وجود نوعين من الجزيئات وهكذا، ومن الخصائص المهمة للنقاوة هي التجانس الكهربى الكيماوى، والذي يقدر بجهاز الهجرة الكهربائية Electrophoresis ويمكن استخدامها كدليل جيد لتجانس تحضير الفيروس.

كما يمكن استخدام الميكروسكوب الإلكتروني للاختبار المباشر للتجانس الطبعمى لتحضير الفيروس، ومن الطرق الأخرى المستخدمة فى قياس درجة النقاوة فى الفيروس هي: Immunochemical methods أو Constant solubility test.

الفصل الثانى

الخواص الطبيعية والكيميائية لفيروسات النبات

PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF PLANT VIRUSES

أولاً: الخواص الطبيعية للفيروس : PHYSICAL PROPERTIES OF VIRUSES

١ - شكل وحجم الفيروس Shape and size of viruses :

منذ زمن طويل والعلماء مهتمون بدراسة شكل وحجم وتركيب الفيروس، ولقد أوضح إيفانوفسكى أن مسبب مرض موزيك الدخان ذو شكل عصوى، وحاول العلماء بعد ذلك تحديد أشكال الفيروسات واستخدموا لذلك طرق عديدة يمكن ترتيبها حسب اكتشافها أو استخدامها إلى :

الترشيح - الترسيب - استخدام الميكروسكوب الضوئى - استخدام ميكروسكوب الأشعة فوق البنفسجية - استخدام ميكروسكوب اختلاف الطور الضوئى - استخدام الميكروسكوب المقطب للضوء - استخدام الميكروسكوب الإلكتروني.

ويعتبر استخدام الميكروسكوب الإلكتروني فى وقتنا الحاضر من أهم الطرق فى تعرف شكل وحجم الفيروسات المختلفة. وتقدمت قدرة الفحص بالميكروسكوب الإلكتروني كثيراً باكتشاف وسائل جديدة لعمل مقاطع فى الخلايا المصابة بالفيروس رقيقة جداً يتراوح سمكها بين ١٠-٢٠ ملليميكرن، والتي بواسطتها أمكن معرفة شكل الفيروس فى مراحل حياته المختلفة.

شكل الفيروس Shape of Virus

أمكن بواسطة الميكروسكوب الإلكتروني تمييز أجسام فى أنسجة النباتات المصابة بأمراض فيروسية، لم يتجح فى رؤيتها داخل أنسجة النباتات السليمة. وإذا ما كان فى بعض الأحيان يلاحظ أجزاء بالخلية النباتية خيطية أو عصوية أو كروية، فإنه يمكن تمييزها بسهولة

فيروسات النبات عن الأشكال الفيروسية.

وفى عام ١٩٥٥ اعتبر ريجوكوف Rijkov أن الجزيئات الموجودة فى عصير النباتات المصابة والمنقى كيميائياً شكلاً للفيروس أطلق عليه اسم (جراثيم فيروسية Virus spores) وأطلق عليها غيره من العلماء جزيئات الفيروس.

حجم الفيروس : Size of Virus

أما مقاييس جزيئات الفيروس فتختلف اختلافاً بيناً. ويمكن تقدير هذه المقاييس بالدقة الكافية بواسطة الصور المأخوذة بالميكروسكوب الإلكتروني لتحضيرات نباتات مصابة، إلا أنه عندما يكتب الباحثون عن هذا الفيروس أو ذاك، يلاحظ أنه عادة ما يعطون مقاييس مختلفة لنوع الفيروس الواحد، ولكن من المعروف أن مقاييس جزيئات الفيروس ثابتة بالنسبة لكل نوع كما هو الحال بالنسبة للشكل.

هذا التباين فى مقاييس جزيئات الفيروس الواحد ربما يعزى سببه إلى طريقة تحضير العينات، وما تبع ذلك من تكسر لجزيئات الفيروس علاوة على ما قد يكون لعمر الفيروس من أثر فى ذلك. لهذا رأى بعض الباحث أن المقياس الذى يمثل أكبر عدد من جزيئات الفيروس يمثل طول جزيء الفيروس بصفة عامة. وقد كتب هروتسكو وليجونكوفا Protchenko & Legonkova (١٩٦٠) أن جسيمات كثير من الفيروسات تحتفظ بشكلها فى الظروف العادية، وعملاً مقارنة لشكل جسيمات فيروس موزيك الدخان، وجسيمات فيروس البطاطس الناتجين عن هرس النسيج المصاب فى هاون بمساعدة الرمل ودون مساعدة الرمل، ووجد أنه لا يوجد فرق واضح فى طول جسيمات الفيروس الواحد الناتجة عن هرس النسيج المصاب، بمساعدة الرمل أو هرسه دون استعمال الرمل.

وأصبح معروفًا أن مقياس جسيمات أو جزيئات الفيروسات يختلف اختلافاً كبيراً؛ فجزيئات فيروس نيكروزيس الدخان قطرها ١٧ نانومتر، وجزيئات فيروس اللون البرونزى فى نبات الطماطم قطرها ١٠ نانومتر. كذلك طول جزيئات فيروس موزيك الدخان ٣٠٠ نانومتر، أما فيروس X البطاطس فطول جزيئاته ٥٠٠ نانومتر. وفيروس اصفرار البنجر طول الخيط فيه ١٢٥٠ نانومتر، بينما طول خيط فيروس تخطيط البسلة ٥٠٠٠ نانومتر. والجدول التالى يبين شكل ومقياس بعض فيروسات النبات.

جدول (٥ - ١): شكل ومقاييس جزيئات بعض فيروسات النبات مقدرة باستعمال الميكروسكوب الإلكتروني.

مقاس حجم الجزيئ بالمليمكرون	شكل الجزيئ	الفيروس
٦٣٠ X ١٥	عصوى	موزيك قصب السكر
٢٨٠ X ١٥	عصوى	موزيك الدخان
٢٨٠ X ١٥	عصوى	موزيك الخيار / ٢
٥٠٠ X ١٠	عصوى	X البطاطس
٣٠٠ X ٥٠	عصوى	التجمد الأصفر للبطاطس
١٠٥ X ٢٥	عصوى	موزيك الفجل
٥٠٠٠ X ١٤	خيطى	تخطيط البسلة
١٢	كروى	النقط الحلقية فى الدخان
٢٠	كروى	الموزيك الأصفر للفت
٢٥	كروى	الموزيك الجنوبي للفاصوليا
٣٠	كروى	موزيك الكوسة
٩٠	كروى	برونز الطماطم
٣٥	كروى	موزيك الخيار / ١

١ - نقطة فقدان الفيروس لنشاطه الباثولوجى بالحرارة :

Thermal Inactivation Point

تتأثر الفيروسات وهي خارج عوائلها بالحرارة العالية بدرجات مختلفة، وتلعب حالة العصير دوراً كبيراً من هذا الموضوع (فمثلاً يفقد فيروس موزيك الدخان تأثيره عند تسخينه على درجة ٧٥° م لمدة عشر دقائق إذا كان الوسط على pH7، أما إذا كان الوسط pH 5.5، فيفقد تأثيره إذا ما عرض لحرارة ٥٩ م لمدة عشر دقائق .

وتميز الفيروسات المختلفة فيما بينها بنقطة فقدان نشاطها، وهي عبارة عن (درجة الحرارة التي إذا ما تعرض لها الفيروس لمدة عشر دقائق فقد قدرته على إحداث الإصابة) .

فمثلاً يتأثر فيروس موزيك الدخان بارتفاع درجات الحرارة تأثيراً تدريجياً، ويتم التأثير

على درجة ٩٣° م لمدة ١٠ دقائق. وفيروس تيكروزيس الدخان يتأثر بدرجة حرارة منخفضة وهى عند ٥٠° م لمدة ١٠ دقائق، يتسبب له تأثير نسبى فى حين أن نقطة فقدان نشاطه الباثولوجى حوالى ٨٠° م - ومن الفيروسات ما هو مقاوم لدرجات الحرارة العالية مثل فيروس تجعد أوراق البسلة، وتصل نقطة فقدانه لنشاطه إلى ١٠٨° م.

٣- التجميد : Freezing

يتحمل عصير النبات المصاب درجات الحرارة المنخفضة، بينما تقل قدرة المستحضرات النقية للفيروس على تحمل مثل هذه الدرجات - وإذا أضيف إلى مثل هذه التحضيرات النقية جلوكوز أو أملاح، فإن ذلك يرفع من درجة مقاومتها وثبوتها.

وللوسط الموجود به الفيروس تأثير كبير؛ فالتحضير النقى لفيروس موزيك الدخان يتحمل التجميد فى الوسط المتعادل pH 7.0، ولكنه يفسد إذا تمت عملية التجميد فى وسط حامضى.

٤- التجفيف : Hydration

معظم الفيروسات النباتية تفسد بسرعة بالتجفيف العادى للأنسجة المصابة أو العصير حتى فيروس موزيك الدخان، الذى يتميز بقوة مقاومته وثباته، فإنه أمام التجفيف يفقد جزءاً ملحوظاً من نشاطه وإذا ما جففت الأوراق المصابة بسرعة على درجة ١° م، ثم حفظت الأوراق فى مكان خالٍ من الرطوبة فإنه بذلك يمكن للفيروسات الثابتة أن تحتفظ بحيويتها لبضعة أشهر، أو ربما لسنة. ومن هذه الفيروسات موزيك الخيار رقم ١ وفيروس البقع الحلقية فى الدخان وفيروس X البطاطس.

٥- تأثير الأشعة فوق البنفسجية (الالترافايوليت) : Effect of Ultraviolet

جميع الفيروسات تفسد بسرعة عند تعرضها للالترافايوليت، ويتم فقدان هذا النشاط عند موجة ٢٦٠ ملليميكرون - هذه الأشعة تمتص بواسطة أحماض النواة، وكذلك الموجات الأقصر من ذلك، ذات تأثير قوى على نشاط الفيروس - أما الموجات الطويلة التى تزيد عن ٣٠٠ ملليميكرون فإن تأثيرها ضعيف، وتحتفظ الفيروسات الفاقدة لنشاطها بواسطة

اللاترافيليت بخواصها الطبيعية وصفاتها كانتيجن .

بعض الفيروسات الفاقدة لنشاطها نتيجة لتعرضها لللاترافيليت يمكن أن تعود لها حيويتها، إذا ما عرضت الأنسجة المصابة للضوء العادى المرئى - وعودة النشاط لا تتم إذا ما كانت الفيروسات خارج خلايا نسيج العائل .

يختلف تأثير الأشعة الضوئية باختلاف الفيروس، ويحتمل أن لا يظهر تأثير الضوء مباشرة، ولكن بعد مرور بعض الوقت يقدر بحوالى ٣٠ دقيقة، حتى تزداد جزئيات الفيروسات، ثم يستمر التأثير لمدة ساعة بعدها يبطل . ولضمان التأثير الضوئى فيكفى تعرض الفيروس للضوء لمدة ١٠-١٥ دقيقة .

٦- الضغط : Pressure

بعض الفيروسات تظهر مقاومة كبيرة نسبياً تحت الضغط العالى، فيفسد فيروس موزيك الدخان الموجود فى العصير إذا ما عرض لضغط ٥٠٠٠٠ جو فساداً ضعيفاً، بينما يفسد فيروس نيكروزيس الدخان فى ضغط ٣٠٠٠ إلى ٥٠٠٠ جو، حيث إنه أقل منه مناعة .

٧- مدة حفظ الفيروس لحيويته : Ageing

يفسد الفيروس الموجود فى عصير النباتات المصابة تدريجياً، إذا ما ترك على درجة الحرارة العادية، وذلك نتيجة لفساد المواد الموجود بها الفيروس، وكذلك عمل أكسجين الهواء . ويمكن إطالة مدة بقاء الفيروس بحالة صالحة إذا ما أضيف للعصير مواد حافظة، وتختلف الفيروسات فى مدة بقائها حافظة لنشاطها اختلافاً كبيراً . فمثلاً فيروس موزيك الدخان يحتفظ بحيويته سنيّاً طويلة، وهو فى العصير بينما يفسد فيروس برونز الطماطم خلال بضع ساعات .

٨- نقطة التخفيف النهائية : Dilution end point

لتركيز الفيروس فى محلول الحقن تأثير كبير، فعند درجة معينة من التخفيف بالماء تصبح الإصابة متعذرة، وذلك ربما يكون نتيجة لقلة جزئيات الفيروس التى تدخل الخلية، وبالتالي فالفرصة تكون بسيطة أمام الجزئيات التى تسمح لها الظروف بالتكاثر - وعلى ذلك

تتوقف الإصابة على عدد جزيئات الفيروس التي تدخل الخلية .

وتسمى درجة تخفيف الفيروس التي بعدها لا يحدث أى إصابة بنقطة التخفيف النهائية

Dilution end point .

ثانياً : الخواص الكيميائية للفيروس : Chemical properties of Virus

١ - ترسيب الفيروس :

يمكن ترسيب الفيروس بواسطة الكيماويات التي ترسب البروتينات مثل الامونيوم أو الكحول .

٢ - تقدير تركيز الفيروس بالطرق الكيماوية :

ولهذا الغرض تستعمل طريقة كلداهل في تقدير النيتروجين، ومنها تقدر كمية الفيروس فى المحلول .

٣ - التكوين الكيماوى للفيروس : استعملت بعض الطرق الحديثة مثل :

أ - الالكتروفوريسس Electrophoresis

تبنى على اساس هجرة migration الجزيئات فى مجال كهربائى، وربما يتم هذا فى وسط سائل أو على ورق . وتحرك الاجزاء او الجزيئات نحو القطب السالب أو تبقى ساكنة (وتقدير اتجاه ومسافة الحركة فى وقت حقن) طبقاً لشكل وحجم الجزيء والشحنة الكهربائية المحولة بواسطة الجزيء وقوتها ودرجة pH للوسط .

وتؤدى هذه الطريقة إلى فصل الجزيئات المختلفة الموجودة فى مخلوط، وتساعد فى تعريفها .

ب - الكروماتوجرافى : Chromatography

وهذه الطريقة تقيس حركة البروتينات والأحماض الامينية والجزيئات الاخرى فى مجال غير كهربى، ويمكن توضيح هذه التحركات على ورق، أو فى أعمدة تحتوى على سليلوز أو Diatomaceous earth، ووجد أن استعمال الورق Paper chromatography مفيد لفصل

وتعريف الاحماض الآمينية . ويحلل البروتين إلى أحماض آمينية، وتوضع نقطة صغيرة من محلول مائي كمخلوط الحمض الاميني على شريط ورق ترشيح قرب نهايته، الذي يغمس بدوره في مذيب عضوى يحتوى على الماء.

ويبدأ المذيب فى التحرك إلى أعلى الورقة على النقطة المحتوية على الحمض الآميني، وتحمل الاحماض الآمينية المختلفة بواسطة المذيب إلى أبعاد مختلفة نحو قمة ورقة الترشيح، معتمدة على درجة ذوبانها فى المذيب العضوى، مقارنة مع درجة ذوبانها فى الماء، ويمكن تقدير النقطة النهائية التى توقف عندها الحمض الآميني باستعمال كيمائيات خاصة، التى تسبب لوناً نتيجة لتفاعلها مع الحمض على الورقة. وبالرجوع إلى الاماكن السابقة لتوقف الاحماض الآمينية عندها . . فإنه من الممكن تحديد وضع الاحماض الموجودة فى مخلوط مجهول.

التحليل الكروماتوجرافى ليس قاصراً على الاحماض الآمينية، ولكن يمكن استعماله فى عزل وتعريف أنواع كثيرة من الجزيئات Molecules.

جـ - وطريقة أخرى لفصل وتحديد مكان وتعريف المواد يمكن الوصول إليه بطريقة مختلفة عن استعمال ورق الإلكتروفوريسس Paper electrophoresis، والكروماتوجرافى، وفيها توضع قطرة من مخلوط به مواد على ورقة ترشيح بقرب نهايتها السفلى، ويستعمل التيار الكهربى . يفصل الإلكتروفوريسس الجزيئات أفقياً بين القطبين.

وتضاف بعد ذلك المذيبات العضوية فتسبب هجرة للجزيئات المختلفة فى بعض الصفات (الشحنة، الوزن... إلخ).

وتخضع طريقة Column Chromatography للأمس نفسها مثل Chromatography وهى هجرة الجزيئات خلال عمود زجاجي، يحتوى على مادة ممتصة متجانسة Suitable absorbent ولكن باستعمال تكنيك مختلف تضاف التحضيرات الكيميائية إلى قمة الأعمدة، وتحرك إلى أسفل العمود بقوة الجذب بواسطة مضخة خاصة. وفى أثناء هجرة التحضير تحدد مواضع المواد المختلفة المكونة للمخلوط.

٤ - اختبارات التلوين : Colour tests للبروتينات والكربوهيدرات

تستخدم تلك الاختبارات للكشف عن الفيروس ومركباته:

١ - اختبار بيوريت Bieuret reaction وهو خاص بروابط الببتيدات Peptide

Linkage وفيه يضاف ٠,٥ سم^٣ من فيروس نقي إلى ٠,٥ سم^٣ من ١٠٪ أيدروكسيد الصوديوم ثم تضاف نقطة أو اثنتان من ١٪ محلول كبريتات النحاس، فإذا تكون لون أزرق بنفسجي فإن هذا يدل على وجود رابطة ببتيدية.

ب - تفاعل ميلون Melon test وهو الكشف عن الـ Tyrosine ويتركب محلول ميلون من ١ جزىء ٤٠٪ حامض النتريك إلى ٩ أجزاء ماء مقطر، ثم يشبع في خلال عدة أيام بنترات الزئبق ثم يرشح- يضاف محلول فيروس نقي، ثم يسخن في حمام مائي ساخن؛ فإذا تلون بلون أحمر فإن ذلك يدل على وجود الفيروس.

ج- اختبار موليش Molish test، وهو الكشف عن الكربوهيدرات يضاف ١ سم^٣ من حامض كبريتيك مركز إلى محلول فيروس باحتياط على جانب الأنبوبة، حتى لا يختلط بالمحلول ويرسب في القاع ويسخن في حمام مائي. وتتكون حلقة بنفسجية بين الحامض ومحلول الفيروس.

ثالثاً: تأثير المواد الكيميائية على الفيروس

كثير من المواد الكيميائية لها القدرة على إبطال مفعول الفيروسات، ومنها المواد التي تؤثر على البروتين مثل أملاح المعادن الثقيلة والأحماض القوية وكثير من المواد الأخرى. بتعرض الفيروس إلى ٣ - ٥٪ ليزول لمدة خمس دقائق يزيد تأثير الفيروس كذلك برمنجنات البوتاسيوم تستعمل كمطهر ضد فيروس موزيك الدخان.

يؤثر الفورمالدهيد H_2O_2 على الفيروس، والتأثير في بعض الحالات على الفيروس يكون جزئياً وعكسياً، فمثلاً يزول تأثير الفورمالدهيد بعمل تحلل مائي لفيروس موزيك الدخان فيعود إليه نشاطه جزئياً.

لوحظ التأثير العكسي على فيروس موزيك الدخان، أثناء تعرضه لمحلول قلوي

Alkalization، وفي هذه الحالة يعود للفيروس نشاطه إذا ما عمل له تحلل مائي بواسطة الماء .

ولقد حصل أجاتوف عام ١٩٤٧ على هذه النتيجة، واقترح أنه في هذه الحالة فإن النشاط ربما يكون مرتبطاً بمجموعة الكربوكسيل لبروتين الفيروس المقيّد .

والتأثير المثبط على هذا الفيروس يسببه أيضاً التريسين، فيرتبط إنزيم التريسين بالبروتين مكوناً مركب غير نشط، وعند كسر الرابطة في المركب فإن الإنزيم يفترق أثناء تخفيف المحلول بالماء فيعود النشاط للفيروس .

فيروس X البطاطس أقل ثباتاً عن فيروس موزيك الدخان؛ لذلك ففي حالة ارتباطه بإنزيم التريسين لا يتأثر فقط، ولكنه بمرور الوقت يحدث خلل للبروتين .

من هذا يمكن القول بأنه لا يوجد هناك تفسير واحد ثابت في عمل المواد المختلفة المؤثرة على الفيروسات المختلفة، وأوضح مثل على ذلك أن الجليكوبروتين المستخلص من *Phytolaca esculenta* يؤثر بشدة على نشاط فيروس الدخان، وفي الوقت نفسه لا يؤثر على البكتريوفاج .

يتوقف نشاط الفيروس بشدة على تركيز أيونات الأيدروجين، وبالمستخلصات حيث يحدث تجمع aggregation للمستخلصات عند pH 10 وأعلى، مع فقد نشاطها وبعض التأثيرات يحدث عند pH 8 . تختلف مقاومة الفيروسات المختلفة للوسط الحامضي اختلافاً ظاهراً فمثلاً يتأثر فيروس X البطاطس كلية في وسط أقل من 4,3 pH، أما فيروس موزيك الدخان فإنه يقاوم في أقل من pH 2 .

يحتفظ الفيروس بنشاطه بعد التحميض المتوسط فعند عدوى نباتات الدخان فإنه تظهر عليها مظاهر الإصابة، ولا يفترق الفيروس المتكاثر والمعزول من هذه النباتات عن الفيروس الأصلي . على أساس كل ما سبق يمكن القول بأن مجموعة الأوكسي ومجموعة الكربوكسيل تلعبان دوراً مهماً في نشاط الفيروس، وكذلك بعض أجزاء من مجموعة الأمين . ولهذا يمكن اعتبار أن التركيب البيولوجي للفيروس يحدده مجموع كل خواص مكوناته الكيميائية وتركيبه الطبيعي .

رابعاً: خواص الفيروس كأنتيجين

تطلق كلمة أنتيجين على المواد التي إذا حقنت في دم جارية حيوان، يكون نتيجة لذلك تكون أجسام مضادة لها صفة الدخول معها في تفاعل. وهناك كذلك مواد تحمل نسبة أنتيجين غير كامل أو Haptens، وهي مواد ليس من صفتها تكوين أجسام مضادة في جسم الحيوان، ولكن يمكنها الدخول في تفاعل مع الأجسام المضادة، التي تكونت ضد الأنتيجين ويكون ذلك نتيجة لتوافق تركيبى.

والبروتينات هي مواد أنتيجينية، وتتكون الفيروسات من نيوكليوبروتين، وتحتوى على بروتين، ولذا فهي أيضاً أنتيجينات.

الباب السادس

علاقة الفيروس بالنبات

**RELATION BETWEEN
THE VIRUS AND PLANT HOST.**

الفصل الأول

دخول الفيروس، وتضاعفه وانتشاره داخل العائل

Invasion, replication and Spread of Virus in the Plant host

على الرغم من المحاولات المتعددة، لم تعرف للآن طريقة للاحتفاظ بمزرعة فيروس على بيئة غذائية صناعية إذ إن حياة الفيروس مرتبطة بوجود خلايا العائل القابل للإصابة، وبذلك فإن الفيروسات ذات علاقة تطفلية إجبارية مع العائل.

بخلاف البكتيريا وبعض فيروسات الإنسان والحيوان فليس لفيروسات النبات طريق لدخول الخلايا النباتية إلا عن طريق الجروح؛ إذ إن إصابة النبات دائماً ما تظهر كإصابة جرحية، إذا لم تؤخذ حالات النقل عن طريق البذور أو عن طريق حبوب اللقاح في الاعتبار، ويدخل الفيروس النبات عن طريق الجروح الناتجة عن سبب ميكانيكي أو بزيارة الحشرات للخلية أو عن طريق نبات متطفل كالحامول. أما عند رش النبات السليم بمعلق مركز للفيروس أو إدخال الفيروس في المسافات بين الخلايا عن طريق التفريغ أو عن طريق الثغور فلا تتم الإصابة.

زراعة فيروس النبات:

ويمكن زراعة فيروس النبات في المعمل بعمل جروح صناعية في خلايا العائل، بشرط أن تكون هذه الجروح دقيقة جداً حتى لا تموت الخلايا المجروحة، مما يؤدي إلى عدم حدوث العدوى. تعمل هذه الجروح بواسطة الاحتكاك البسيط لسطح الورقة باليد أو بقضيب من الزجاج ذي قاعدة مبطن خشنة نوعاً على هيئة حرف L، وربما تستعمل عدة مواد للمساعدة في إحداث تلك الجروح مثل الرمل الناعم أو مسحوق الصنفرة Carborandum أو الزجاج المسحوق ترش على سطح الورقة، يلي ذلك حقن النبات بواسطة دهان سطح الورقة بقطعة من القطن أو الشاش مبللة بعصير نبات مصاب.

وبعض الفيروسات التي كان نقلها صعباً بواسطة مسح سطح الورقة بالعصير مثل فيروس البطاطس، أصبح من السهل نقلها إذا ما استعملنا المواد المساعدة لإحداث الجروح الصغيرة.

وهناك طريقتان للاحتفاظ بمزوعة فيروس نبات :

١ - استعمال نبات قابل للإصابة يزرع فى الصوبة، وعند العمل مع نبات حولى فيمكن الاستمرار فى حفظ مزوعة الفيروس عن طريق تمريرها من نبات، أو شك أن ينهى حياته إلى نبات صغير، وهذا يمكن أن يتم فى حالات ما إذا كان الفيروس ينتقل ميكانيكياً بواسطة الحقن بالعصير. أما فى حالة الفيروسات التى تنتقل بواسطة الحشرات فقط، فإن التمرير يمكن أن يجرى بواسطة التطعيم بجزء من نبات مصاب على نبات سليم أو باستعمال حشرات نظيفة ناقلة. وفى بعض الأحوال كما هو الحال فى زراعة فيروس موزايك الدخان لا تظهر أى مشاكل؛ إذ إنه من السهل زراعة نباتات دخان، ثم حقنها بالفيروس الذى يتكاثر وينتشر خلال النبات بأكمله ويمكن الحصول على الفيروسات من أى جزء من النبات. ولكن ليس كل الفيروسات قادرة على أن تصيب الدخان وتتكاثر بداخله، بل لكل فيروس عائل خاص به يتكاثر بداخلها، وبعضها نجده سهل الزراعة والبعض الآخر نجده صعب، كما أنه فى أحوال كثيرة لا يتكاثر الفيروس فى داخل كل أجزاء جسم العائل، بل يتكاثر فى أنسجة بعض أجزاء الجسم فقط، وبذلك يكون حقن نبات أو جسم بأكمله ليتم التكاثر منه من سبيل ضياع الوقت.

٢ - أمكن زراعة كثير من الفيروسات فى الأعضاء المعزولة، وسميت هذه الطريقة بطريقة زراعة الفيروس فى الأنسجة Cultivation Of Virus in Tissue، وفى هذه الطريقة تؤخذ هذه الأنسجة نظرياً من أى جزء من النبات.

تضاعف الفيروس :

يتضاعف الفيروس بمجرد دخوله خلايا العائل النباتى. ولأن لم تُبحث جيداً طريقة تضاعفه، وأكثر ما درس من فيروس النباتات هو فيروس موزايك الدخان، ولقد لوحظت مرحلتان فى تطور أو تضاعف هذا الفيروس، رغماً عن أنه ربما يكون هناك أكثر من هاتين المرحلتين وهما :

أولاً : الطور الخضري أو مرحلة الخسوف Vegetative Phase :

وهو يبدأ بدخول الفيروس خلايا العائل، وبعد ١ - ٢ ساعة ومن عدوى العائل القابل

للإصابة، ويمتد إلى نحو ٩ - ١٠ ساعات، بعدها ينتقل الفيروس إلى الطور الثابت، وذلك فى ظروف الحرارة المثلى حسب (Coughov & Kapitza (1956).

والفيروس فى هذا الوقت ليس له القدرة على إصابة نباتات جديدة باستعمال الطرق المعتادة للحقن، علاوة على أنه يفسد بسرعة عند تهتك النسيج فى حالة تحضير مادة الحقن، وأظهرت دراسة تطور الفيروس أنه عند حفظ أوراق الدخان المحقونة فى الظلام، وفى ظروف حرارة مرتفعة (٣٦°م) للسلاسل المقاومة للحرارة، فإن الفيروس يتضاعف ولكن انتقاله إلى الطور الثابت منعدم أو يقل بدرجة كبيرة. وفى هذه الظروف تتجمع كميات كبيرة من الطور الخضرى للفيروس فى خلايا الأوراق. وعند وضع الأوراق فى أحوال مناسبة للانتقال للطور الثابت على درجة ٢٨°م فإن الانتقال لهذا الطور يتم فى مدة أقل نسبياً.

ففى حالة حفظ الأوراق المتجمع فيها الطور الخضرى للفيروس لمدة ٢ - ٣ ساعات على حرارة مناسبة تظهر فيها كمية كبيرة من الفيروس القابل لإحداث العدوى.

ثانياً: الطور الثابت : Dormant Phase

وينتقل إليه الفيروس كما يظهر نتيجة لعدم ملائمة الوسط للطور الخضرى، وربما لتجمع نواتج التبادل الغذائى، التى تعيق استمرار الفيروس من التكاثر فى اتجاه الطور الخضرى.

والفيروس فى هذا الطور عبارة عن جزيئات لها صفة العدوى، ويمثل تضاعف الفيروس عملية بيولوجية معقدة تنتهى بتكوين جزيئات ثابتة لها صفة العدوى، فمن المعروف أن الفيروس يحتوى على محتويين كيميائيين لحمض نووى معدى DNA, RNA وبروتين الفيروس - ولم يعرف أن البروتين يحتوى على أى نشاط إنزيمى، ولا يمكن بواسطته فقط إحداث إصابة، وظهر أنه يعمل كوقاء لحمض النواة.

أما الحمض فمن الجهة الأخرى يحمل قدرة إحداث العدوى، والتى ينتج عنها إنتاج جزيئات فيروسية شبيهة بالأصل. ولهذا يظهر أنه يحمل المعلومات الوراثية ليس لإنتاج نفسه فقط، ولكن لإنتاج بروتين الفيروس أيضاً. ورغم أن حمض DNA هو المسئول عن المعلومات الوراثية لكل أنواع النباتات والحيوانات، إلا أن الفيروسات تعتمد على حمض

RNA أو DNA فى حمل المعلومات الوراثية.

ولقد درس حمض النواة RNA الموجودة فى فيروس موزايك الدخان بتوسع باستعمال الميكروسكوب الإلكتروني، واستعمال أشعة X.

وقد أوضح (1956) Gierer Schramm وظيفة RNA فى فيروس موزايك الدخان، حينما توصل إلى عزله، ووجد أن له القدرة على إحداث العدوى فى غياب البروتين.

وتمكن (1957) Frankel Conrat من خلط حمض لفيروس موزايك الدخان مع بروتين سلالة أخرى، وحقن به، ووجد أن مظاهر الإصابة تكون للسلالة المأخوذة منها الحمض النووي، كما هو واضح من الجدول التالى:

مظاهر الإصابة Symptoms	نوع الـسلالة		
	بروتين Protein	RNA	VIRUS
مظاهر الإصابة لفيروس موزايك الدخان	TMV		
مظاهرة الإصابة لفيروس موزايك الدخان	سلالة HR	TMV	فيروس موزايك الدخان
مظاهر الإصابة لفيروس موزايك الدخان TMV	موزايك الدخان TMV	TMV	موزايك الدخان + HR
مظاهر الإصابة لفيروس سلالة HR		HR	سلالة TMV + HR

وهذا يبين - ولأول مرة - أن حمض RNA هو الحامل الأساسى للمعلومات الوراثية لجزئى فيروس موزايك الدخان والمدخل المعروف فى النبات أن النواة أو النوية بها DNA، وهو الذى يوجه الخلية لإنتاج mRNA وبالتالى فإن mRNA مع وجود الريبوسومات Ribosomes الموجودة فى السيتوبلازم تكون البروتين فى خطوات متعددة، فهل يتبع تكون الفيروس هذا الطريق أو على النقيض للفيروس طريقه الخاص فى إنتاج جيله؟

وكان البحوث الاوائل لا يفرقون بين طريقة تكاثر الفيروس وتكاثر اى ميكروب آخر؛ حيث إن العملية ترجع إلى جزئ الفيروس نفسه الذى يعطى خلفه له، وتنتهى آخر خطوات الإنتاج Reproduction فى انقسام طولى أو عرضى يتبعه النمو ثم النضج. ولكن عند اكتشاف وجود جزئيات فيروسية لفيروس موزايك الدخان TMV أقصر فى طولها من طول الجزئيات العادية ٣٠٠ ملليميكرون Bawden & Pirie, 1953 فى أنسجة مصابة بالفيروس، ارتفعت عدة أسئلة منها هل هذه الجزئيات ممرضة، أو هل هى جزئيات غير ممرضة، إلا أن Takahashi & Rowlines, 1949 وجد أن هذه الجزئيات القصيرة غير ممرضة، وأن صفة العدوى تحملها الجزئيات الطويلة، ومن الممكن أن تنجح الجزئيات القصيرة فى تكوين جزئيات أطول إلا أنها لا يمكنها إحداث العدوى.

وبالتقدم العملى امكن الوصول إلى أن بروتين الفيروس وحمض النواة يتكونان بنظامين منفصلين، ثم يلتصقان ليكونا جزئ النيوكليوبروتين الثابت.. وهذه النظرية وضعت على أساس ثلاثة اكتشافات:

أولاً: أن البروتين يتكون تلقائياً داخل الخلايا المصابة بالفيروس - وهذا عمل (Takahashi & Ishil 1952, Commaner et al 1953, Jenner and Iomoino 1953).

ثانياً: يتخلص الفيروس من البروتين اى يبقى حمض النواة عارياً، ويحمل صفة العدوى أن نتيجة العدوى به هى تكوين جزئيات كاملة من الفيروس تتكون من نيوكليوبروتين، وهذا عمل (Gierer & Schramm 1950, Frankel Conrat & Singer 1957).

ثالثاً: من الممكن تكوين جزئيات فيروسية ثابتة حاملة لصفة العدوى تشبه الفيروس الاصلى، وذلك فى مخلوط Suspension من بروتين الفيروس وحمض النواة فى العصير أبحاث (Frankel - Conrat & Williams 1955).

ومما سبق يمكن الإجابة عن السؤالين التاليين:

١ - هل يؤثر الفيروس ويغير التأثير الوراثى لحمض DNA، ويجعله يعمل RNA غريباً، أو

يعطى المواد اللازمة مثل النواة والإنزيمات... وهل يعمل RNA الفيروس كقالب لنفسه
As its own templete ؟

٢ - كيف يشارك RNA الخلية فى إنتاج شىء غريب عنه مثل بروتين الفيروس ؟
وللإجابة عن هذه الأسئلة:

نعرف أن الإصابة الفيروسية إصابة جرحية؛ أى لا بد من العمل على إدخال الفيروس داخل النبات، وبعد ذلك يبدأ الفيروس فى اتصال وثيق فى وحدة مع محتويات الخلايا الحية، بحيث لا يؤثر غسيل النسيج بالماء على هذه الوحدة، ولا يقلل الإصابة إذ وجد أنه عند حقن أوراق *N. glutinosa* بواسطة حمض RNA لفيروس موزايك الدخان، ثم غمسها فى محلول إنزيم RNA ase كاف لإبادة RNA، ولم يلاحظ أى تأثير على عدد النقاط المحلية المتكونة، وهذه الوحدة هى أول عملية كيميائية أو طبيعية يحدثها للفيروس، ويسمى هذا الطور عملية ادمصاص Adsorption، وهناك بعض الظواهر التى تدل على أنه ومباشرة وبمجرد ادمصاص أو دخول Penetration الفيروس الخلية، يزال جزء من بروتين الفيروس بوسيلة ما حتى يتكشف خيط حمض النواة.. وهناك من يعتقد أنه إذا لم يحدث هذا فإن الإصابة لا تتم... أما الطريقة التى يحدث بها فغير معروفة.. ولم يحصل على إنزيمات فى النبات تحدث مثل هذا التأثير.. وقد تمت عدة تجارب فى المعمل لفصل وحدات البروتين من حمض النواة لجزئيات الفيروس النقية بداها Sreeni Vasaya & Pirie 1938.

أوضح Jeener 1957 أنه إذا تخلل infiltrated إنزيم RNA ase أوراقاً محقونة بالموزايك خلال ساعتين من الحقن، فإن الفيروس لا يتكاثر، وهذا يوضح أنه لا بد من مرور ساعتين على الأقل ليتخلص حمض RNA من البروتين. وفى هذه المدة فإن الفيروس معرض لعمل الإنزيم. أما إذا بدأ الإنزيم عمله بعد ساعتين فإن حمض RNA المنفصل يحمى نفسه بتداخلها مع العائل أو بواسطة تكوين Polymerization ببروتين الفيروس.

وفى تجارب أخرى (Single et al 1957) وجد أنه بمجرد أن أصبحت مادة ال RNA فى علاقة وطيدة مع موقع الإصابة فى الخلية، فإن المقاومة للاشعاع تزداد، وهذا يحتاج إلى ٢,٥

٥ ساعات حسب نوع الفيروس.

وفى تجارب أخرى ذكر Kassanis 1960, Frankel - Conrat et al, 1955 أن النقط الخلية تظهر أسرع عند حقن النابت بحمض RNA عن حقنها بالفيروس الكامل، ووجد Schramm 1959 أن مدة السكون أو الحسوف Latent period (١٠ ساعات) أقل فى حالة الإصابة بحمض RNA عنها فى حالة الإصابة بالفيروس كامل.

لوحظ نشاط غير عادى لنواة الخلية المصابة بفيروس موزايك الدخان، وذلك بعد ٤ - ٢٠ ساعة من الحقن، وفى حالة الإصابة فإن مواد قائمة فى الخلية تتحرك من النواة (بناء المواد الخاصة بالفيروس). ويقول بعض الباحث بأن آخر خطوة لتكاثر الفيروس تأخذ مكانها فى نواة الخلية، وليس بعيداً عنها فى السيتوبلازم، ووجد Schramm & Rottger أن بروتين الفيروس يمثل فى السيتوبلازم بحيث يرى فى أول الإصابة حول النواة، ثم يظهر بعد ذلك خلال الخلية، ولكن لم يلاحظ فى النواة أو الكلوروبلاستيدات. وقد فسرت هذه الخطوة السابقة بأن الفيروسات التى تحتوى على حمض DNA، الذى يتجه بعد دخوله الخلية إلى النواة، ويسيطر على حمض DNA النواة، ويجعله ينتج RNA جديداً، يعمل على تكوين بروتين الفيروس.. أما فيروسات RNA فيختلف العمل فيها، إذ يعتقد أن RNA الحمض المعدى أو على الأقل جزء منه يعمل كمرسل RNA يتجه مباشرة إلى الريبوسوم، وهناك يبدأ فى توجيه إنتاج الإنزيمات اللازمة لتكوين بروتين الفيروس.

وهناك رأى آخر يذكر أنه بمجرد تحرر الحامض النووى RNA من غلافه فإنه يدخل نواة الخلية؛ حيث يعمل هناك كقالب يتكون عليه خيط آخر يشبه له، ونتيجة لذلك يتكون شكل ذو خيطين: أحدهما RNA الاصلى للفيروس، والثانى هو الذى تكون جديداً، وبمجرد تكوين الخيطين ينفصلان ويعمل الخيط الجديد فى هذه الحالة كقالب، تتكون عليه خيوط جديدة تنفصل عنه بمجرد تكوينها، وترك النواة متجهة إلى السيتوبلازم حيث يتم تمثيل البروتين الفيروسي.

وفى كلتا الحالتين تبدأ الخلية بتكوين بروتين وحمض النواة اللازمين لتكوين جزيئات فيروسية جديدة.. وقد أوضح Schramm et al. 1959 أن سرعة تكوين وحدات البروتين

تزيد بمقدار ٢٠٠٠ مرة سرعة تكوين حمض RNA، وربما يتحد المحتويان المكونان للفيروس داخل الخلايا.. كما تمكن Frankel - Conrat 1960 من اتحادهما في العنصر، وباختصار فإن زيادة تكوين البروتين يؤدي إلى تراكم بعضه في الخلية.

وقد وجد Markham et al, 1948 في تحضيرات اللوزايك الاصفر للفت نوعاً آخر من البروتين، كما وجد أيضاً Takahashi and Ishil 1952 في تحضيرات موزايك الدخان، ويسمى هذا البروتين X protein حسب Takahashi، أو أنتيجن ذائب Soluble antigen حسب عمل Jeenier 1952، أو بروتين B ذائب حسب Commoner 1956، ويمكن معرفته بواسطة طريقة Auchter Iony's gell diffusion؛ إذ إن البروتين أصفر من الفيروس، فينتشر أسرع ويقابل الأجسام المضادة، ويتحد معها في مكان بعيد عن مكان اتحاد الفيروس الأقل سرعة منه.. ولهذا البروتين خواص طبيعية تختلف عن بروتين الفيروس؛ فهو لا يحتوى على حمض نوأ، ولا يمكن إحداث العدوى، وليس للعائل أى تأثير على إنتاجه فيختلف باختلاف سلالات الفيروس، فتجد جزيئات Rod Shaped مثل الـ TMV بأطوال مختلفة وبإعداد لا تشابه جزيئات الفيروس، وعند بنائها Reconstitution مع تحضيرات فيروس ذات صفة عدوى عالية، تتكون جزيئات بطول ٣٠٠ ملليمكرون، وتظهر لهذه الجزيئات صفة عدوى كالفيروس الأصلي وربما أعلى.

دورة في تمثيل الفيروس:

كتب Bawden يقول إن المستخلصات المأخوذة من نباتات مصابة أو حيوانات مصابة دائماً ما تحتوى على جزيئات مختلفة، ولا يميزها شكل واحد، يدل على أنها ناتجة عن تكرار للجزيئات نفسها التي أحدثت العدوى.. وتختلف هذه الجزيئات من جزيء لجزء في عدة أوجه فليست كل الجزيئات التي لها صفة العدوى متشابهة، ربما ذلك لاختلافات وراثية ناتجة عن طفرات واختلافات في ترتيب العوامل الوراثية.

أما الجزيئات التي لا تحمل صفة العدوى، والتي تسمى بأسماء مختلفة، منها الأنتيجن الذائب Soluble antigen أو الفيروس غير الكامل incomplete Virus أيضاً ذات أشكال مختلفة بعضها يحتوى حمض نوأ، وبعضها له الحجم نفسه، والشكل، إلا أنها قد تكون

لها صفة العدوى مرة واحدة عند حقنها، وإذا كانت لا تسبب العدوى يكون ذلك نتيجة لتغيرات تشبه ما يحدث في الأجسام الراقية، والذي يسمى Latent mutants وبعضها حمض نواة قصير أقصر من حمض النواة بالجزئيات التي تسبب العدوى، ومن هذا يتبين أنه لا بد من وجود كمية معينة من الحمض؛ حتى يصبح الجزيء قادراً على العدوى، وبعض هذه الجزئيات لا يحتوى على حمض النواة، رغم أنها فى الحجم نفسه وشكل الجزئيات الفيروسية المعدية.

وقد نسأل ما الذى يدعو إلى تكوين مثل هذه الجزئيات المختلفة؟ ومن الصعب الإجابة عن هذا السؤال، إلا أنه ربما يمثل بعضها خطوات فى تكوين الفيروس، وربما يمثل البعض أخطاء فى عملية تمثيل الفيروس، ويرى البعض أنها ربما يكون محتويات متخلفة من العملية.

وقد أظهرت الدراسة الكيميائية لتضاعف الفيروس الآتى:

١ - وجود بعض الفسفور الفيروسي منتشراً فى سيتوبلازم الخلايا... وهذا يدل على انفصال بعض أجزاء الفيروس بمجرد دخوله الخلية.

٢ - إن حامض الريبونيوكلريك الفيروسي يتكون من مصدرين فقط بعض مشتقات الفيروس الاصلى، وما تمصه الخلية من مواد ومن الوسط الذى تعيش فيه تحللها بدورها إلى مواد فيروسية، أى أنه لا يشترك فى تكوينه حامض النيوكلريك من سيتوبلازم الخلية أو نواتها، كما يحدث فى البكتريوفاج وبعض فيروسات أخرى.

٣ - لوحظ أنه إذا حقنت ورقة نبات دخان مصابة بفيروس الموزايك بمحلول كلوريد الامونيوم، الذى يشمل ذرة النيتروجين على حالة النظير (١٥ ن) فإن حامض الريبونيوكلريك والبروتين الفيروسي اللذين يتكونان بعد ذلك يحتويان هذا النظير، قبل أن يوجد فى بروتين النبات نفسه؛ مما يدل على أن جهاز الخلية استطاع أن يدخل النيتروجين المشع فى مواد الفيروس مباشرة.

٤ - لاحظ Takahashi and Ishii أن هناك نوعين من الأجسام الفيروسية المستخلصة من

ورقة مصابة: أجسام أخرى وزنها الجزئي اصغر من الوزن الجزئي للفيروس، ولكن لها نفس الصفات السيولوجية وهي مكونة من البروتين، فقد حامض الريبونوكليك، علاوة على أنها غير قادرة على إحداث العدوى، وسميت بروتين (X) .. وقد اقترح أن هذا طوراً ثابتاً في تمثيل فيروس موزايك الدخان، واقترح أن تضاعف الفيروس TMV في النبات لا يكون بالانقسام، ولكن بالتحاد ال RNA والبروتين اللذين يتكونان منفردين أولاً.

وقد كتب Sigel, M.M. & Baslay 1965 مقترحين المراحل الآتية لإصابة الفيروس للخلية:

١ - المرحلة الأولى: مرحلة الادمصاص Adsorption وفيها تجذب الخلية الفيروس إليها ويلتصق بسطحها. وتتم هذه العملية على خطوتين:

الخطوة الأولى: وتسمى elution، وفيها يمكن فصل الفيروس عن سطح الخلية.
الخطوة الثانية: وتسمى irreversible union، وفيها يكون الالتصاق ثابتاً، وليس من السهل فصل الفيروس عن الخلية.

٢ - المرحلة الثانية: Penetration step وتبدأ بدخول الفيروس الخلية، ويأتي هذا بعدة طرق منها أن تبتلع بعض الخلايا الفيروس Swallowed، أو قد توجد أعضاء خاصة -Spe- cialized instrument of penetration تعمل على إدخال الفيروس في الخلية، كما هو الحال في فيروس البكتيريا، وهذه المرحلة يتخلص الفيروس من غلافه البروتيني إما قبل دخوله الخلية كما هو الحال في فيروس البكتيريا، أو قد تبدأ عملية التخلص قبل الدخول، وتنتهي بعد الدخول عادة.

٣ - المرحلة الثالثة: Eclipse or dark period وهي مرحلة الخسوف أو المرحلة المظلمة، وفيها يستعد حمض النواة لقلب نظام العمل في الخلية، وللسيطرة على نظام وميتابولزم الخلية، ويجبر الخلية على نظام خاص جديد لإنتاج إنزيمات وبروتينات لازمة لتكوين جزيئاته الجديدة .. وبذلك تبدأ الخلية في إنتاج بروتين وحمض ونواة غريبة عن احتياجاتها.

٤ - المرحلة الرابعة Production of precursors وفيها تنتج الجزيئات الفيروسية الكاملة.

٥ - المرحلة الخامسة Release step: وفيها يخرج الفيروس من الخلية ويسلك طريقين، فإما أن يخرج الفيروس من الخلية جزيئاً بعد جزيئ، أو قد تنفجر الخلية ويخرج الفيروس كما هو الحال في فيروس البكتريا.

انتشار الفيروس:

بعد دخول الفيروس الخلية نتيجة للحقن وتضاعفه فيها، تغزو الجزيئات الفيروسية المعدة الخلايا المجاورة عن طريق الخيوط البروتوبلازمية Protoplasmic strands التي تربط جميع خلايا الورقة ببعضها، وسرعة الانتشار هذه غير كبيرة، وتقاس بالميكرون في الساعة، وقد وجد Uppel 1934 أن فيروس TMV ينتقل من خلية إلى أخرى بسرعة ٧-٨ ميكرون .

ولقد وجد Sammucl أن موزايك الدخان لم ينتقل من أوراق الطماطم المحقونة لمدة ٣-٤ أيام، كما وجد Kunkel أن فيروس البطاطس X يحتاج ٢-٣ أيام؛ لينتقل من مكان الحقن في الأوراق إلى الساق، بينما يحتاج فيروس Tomato aucuba Mosaic إلى ستة أيام، وتستمر حركة الفيروس ببطء إلى أن تصل إلى اللحاء، فيسرع في حركته وينتشر بسرعة إلى مسافات بعيدة في الساق والجذور والقمم النامية، وتختلف السرعة باختلاف الفيروس واختلاف العائل.. ولقد وجد الفيروس في الجذور، في خلال ١٢ ساعة من أول ظهوره في اعناق الأوراق المحفوظة، ووجد في قمة الساق في خلال يوم واحد ويتحرك فيروس تجعد قمة بنجر السكر بسرعة ١٥٢ سم / ساعة، ولكن بسرعة ١,٢٧ سم / ساعة في الدخان، ويكون النسيج البرانشيمي Paranchyma هو مكان الحركة البطيئة للفيروس، وتصاب الأوراق الحديثة أولاً تليها الأوراق الأكبر سناً، وتبدأ إصابة الأوراق بجوار العروق الأكبر سناً، وتبدأ إصابة الأوراق بجوار العروق، ويحتاج النبات المتوسط العمر إلى ثلاثة أسابيع ليصبح مصاباً كلية، بينما تحتاج النباتات المسنة إلى شهرين في طور الإثمار.

ولقد وجد Coukhov and Kepitza أنه عندما يصل الفيروس إلى اللحاء تتغير السرعة، فبدخول فيروس موزايك الدخان اللحاء، وجد أنه ينتقل في نبات الدخان بسرعة ١ - ١,١

سم / ساعة فى الأوراق، بينما وجد Kunkel أن الفيروس يسير بسرعة ١٧ سم / ساعة فى الساق.

ولا تعتمد حركة الفيروس السريعة على استمرار تكاثره؛ حيث إن أجزاء النبات البعيدة يوجد بها الفيروس فى الوقت، الذى تخلو منه بعض الأجزاء القريبة من مكان العدوى.

ويقترح Samuel أن هذه الحركة السريعة تحدث فى اللحاء، وتصحب حركة انتقال الغذاء من الأوراق، كما يقترح كثير من البحاث أنه الاتجاه نفسه الذى تسير فيه نواتج التمثيل الضوئى، ويدللون على ذلك بسرعة إصابة البراعم الزهرية والثمار، وكذلك عند وضع النبات فى الظلام أو عند نزع أوراق منه.. فإن هذا يزيد من سرعة انتقال الفيروس نحو القمة، ويؤكد ذلك تجارب علام ١٩٦٠، إذ وجد أن تركيز فيروس موزايك الدخان يزداد فى أعضاء نباتات الدخان بتقدمها فى العمر حتى يصل نهايته عندما يصل العضو إلى تمام النضج، كذلك لوحظت زيادة تركيز الفيروس فى الساق أثناء فترة الأزهار، فى الوقت الذى يزداد نشاط المواد الغذائية المجهزة نحو البراعم الزهرية. ولفيروس موزايك الدخان القدرة على الحركة خلال الأوعية الخشبية، ولكنه لا ينتقل منه إلى الأنسجة الأخرى، إذا لم يجرح الخشب، ويتحرك فيروس تقزم البرسيم الذى عادة ما يوجد فى الأوعية الخشبية فى نبات Alfalfa.

ثانياً الظروف الفسيولوجية لتضاعف الفيروس :

Physiological conditions for virus production

تحدد حالة العائل الفسيولوجية سرعة تزايد الفيروس لدرجة ملحوظة، وذلك بناء على أن الفيروس يتطفل إجبارياً داخل الخلية.. وحيث إن الفيروس نيوكليوبروتين لذلك فإن نموه وتزايديه يتوقف أولاً على تبادل تمثيل البروتين وحمض النواة فى النبات العائل..

والعوامل الآتية لها تأثير كبير على تضاعف الفيروس :

١- تأثير التغذية بالعناصر المختلفة (ن- فو - بو) على تزايد الفيروس :

أ - التغذية الأزوتية (ن) :

اختلاف الأزوت فى تغذية النبات يغير من سرعة تجمع الفيروس فيه؛ فمثلاً إذا ما زرعت

نباتات طماطم فى مزارع رملية بها نقص فى مصدر الأزوت (٣-٧ أجزاء فى المليون) ومزارع رملية بهما تغذية أزوتية عادية (٧٠ جزءاً فى المليون) وأخرى بها تغذية زائدة (٥٠٠ - ١٠٠٠٠٠ جزء من المليون)، واستمرت النباتات لمدة ٢٨ يوماً، قبل إصابتها بفيروس موزايك الدخان ولمدة ٣٠ يوماً بعد عملية الإصابة، لوحظت الاختلافات التالية: فى حالة التغذية العادية وصل النبات إلى حجمه الطبيعى، وفى حالة التغذية غير الكافية والتغذية الزائدة كان حجم النبات أصغر من المعتاد كثيراً.

وكان مقدار نيوكليوبروتين الفيروس مقاساً بالملليجرام لكل وزن طازج فى حالة الجوع الأزوتى ٣٤٪، وفى حالة زيادة الأزوت ٥٠٪ أكثر مما فى حالة النباتات التى حصلت على كمية معتدلة من الأزوت Kendrich and Others 1953.

وبناء على نتائج هذه التجارب وكذلك النتائج الأخرى، يمكن القول بأنه لا توجد علاقة مباشرة واضحة بين سرعة نمو النبات والعامل وتجمع الفيروس فيه.. وفى حالة زيادة التغذية الأزوتية، يتعطل أو يوقف نمو النبات إلا أنه يزيد من إنتاج الفيروس. أما السؤال عن ما هى المحتويات الأزوتية التى تذهب لبناء جزيئات الفيروس.. فهذا لأن لم يجد الإجابة الكاملة، إلا أن النتائج الموجودة تدل بوضوح على أن بروتين الفيروس لا يتكون من البروتين الجاهز بالنبات العائل، ولكن من جزيئات يعتقد أنها اتحاد لـ ٥ حمض أمينية.

ب - التغذية الفوسفورية (فو) :

وجد أن نباتات الدخان يزداد حجمها بزيادة نسبة المحتويات الفوسفورية فى المخلوط المغذى (٣ أجزاء فى المليون إلى ٢٣٧ جزءاً فى المليون). أما فى حالة المستويات العالية فإن حجم النبات يقل وتصبح النباتات قزمة، إلا أن تركيز الفيروس فيها يكون عالياً، فمثلاً عند ٥٤٧ جزء فوسفور فى المليون، كان تركيز الفيروس أكثر من تركيزه عند مستوى ٢٣٧ جزء فوسفور فى المليون، حيث كان نمو النبات أكبر.

فى حالة موزايك الدخان فإن الفوسفور غير العضوى يقل فى الأوراق، ابتداء من اليوم السادس بعد الحقن، كما وجد أن مقدار الفوسفور الذائب فى الأثير يزداد فى الساعات

الأولى بعد الحقن، ثم يقل بعد يومين إلى اليوم الرابع، وعندما تبدأ مظاهر الإصابة الخارجية في الظهور، تزداد كمية الفوسفور الذائب في الأثير.

جـ - التغذية البوتاسية :

وجد أن تغيير المحتويات البوتاسية في المحلول المغذى ذو تأثير ضعيف على نمو النبات وتجميع فيروس موزايك الدخان . أما في حالة زراعة النباتات في محاليل مغذية متوازنة، فإن تجميع الفيروس فيها يكون في علاقة متوازنة مع نموها وحجمها .

٢ - تأثير التغذية بالعناصر المختلفة على الإصابة الفيروسية :

في تجارب المزارع المائية التي أجريت بكلية الزراعة جامعة عين شمس، وجد علام وآخرون ١٩٧٥ اختلافاً في استجابة نباتات الدخان للإصابة بفيروس الموزيك حسب نوع المحلول الغذائي المستخدم (محلول هوجلاند)، فقد أدى المحلول الغذائي ذو التركيز المنخفض من النيتروجين (٥٠ جزء / مليون)، أو الذي ينقصه البوتاسيوم أو الكبريت إلى تقليل تأثير الإصابة بالفيروس على نمو النباتات، بينما كان التأثير في حالة نقص الكالسيوم والمغنسيوم من المحلول الغذائي متوسطاً، في حين أن تأثير الإصابة بالفيروس على نمو نباتات الدخان كان شديداً في حالة استخدام محلول غذائي، ذي تركيز منخفض من الفوسفور (١٠ أجزاء / المليون) أو الحديد أو المنجنيز.

٣ - الكربوهيدرات :

للكربوهيدرات تأثير كبير في إنتاج الفيروس لتدخلها في تمثيل الأحماض الأمينية والأحماض النووية وارتباطها بعملية التنفس . . ولقد وجد سوخوف عام ١٩٥٠ أنه في حالة ما إذا نزع أوراق دخان مصابة بفيروس الموزايك، وحفظت في ظلام، يقل تراكم الفيروس فيها بشكل ملحوظ . وفي حالة ما إذا تعرضت نصف هذه الأوراق إلى إدخال محلول ٢٪ جلوكوز في مسامها «بطريقة التفريغ»، يلاحظ نمو الفيروس بكثرة عن نموه في النصف الآخر الموضوع في ماء مقطر.

كما وجد (Fulton 1952) أن فيروس نيكروزيس الدخان لا يسبب نيكروزيس لأوراق

الفاصوليا المنزرعة والمحفوفة في الظلام، بينما إذا ما وضعت هذه الأوراق على محلول ١٪ آجار يحتوى على ٤٪ جلوكوز، و ٤,٠٪ فوسفات البوتاسيوم KH_2PO_4 يظهر النيكروريس بوضوح. وظهرت أهمية المواد الغذائية المتجمعة في الفلقات لإنتاج الفيروس في حالة إصابة بادرات الطماطم بفيروس الدخان؛ فإذا نزع الفلقات في بعض النباتات، ثم حقنت وحفظت البادرات في الظلام.. فإن تجمع الفيروس يقل بكثرة في النباتات المنزوعة الفلقات عنه في النباتات غير منزوعة الفلقات.

ووجد سوخوف ١٩٥٠ أيضاً أن التمثيل يؤثر على قابلية النباتات للإصابة بالفيروس فعدد النقط الميتة (نيكروريس) التي تظهر على أوراق الفاصوليا وأوراق *N.glutinosa* ونباتات الدخان نتيجة لإصابتها بفيروس نيكروريس الدخان وفيروس موزايك الدخان وموزايك البرسيم وموزايك اللفت تتوقف على الساعة، التي تمت فيها عملية الحقن فيقل عددها في الأوراق التي أصيبت الساعة ٤-٦ صباحاً، ويزداد في التي أصيبت ٨-١٠ صباحاً، ثم يصل النهاية العظمى في حالة الإصابة الساعة ١-٢ بعد الظهر، ثم تقل ثانية كلما تأخرت حتى الصباح.

٤ - الحرارة:

تلعب الحرارة دوراً كبيراً في حياة الفيروس داخل العائل فتوقف سرعة تكاثر الفيروس في خلايا النبات، يعتمد بدرجة كبيرة على درجة الحرارة المحيطة بالنبات، كما تتوقف مقاومة الفيروس للحرارة على ظروف زراعة النبات العائل.

ويمكن لبعض الفيروسات أن تتحمل درجات حرارة عالية، لا تتحملها إذا ما وجدت في العصير خارج العائل. ويفسر ذلك بأنه نتيجة لارتفاع الحرارة، بينما تتجمع مواد مضادة كانت تؤثر على الفيروس في المجالات الأخرى بحيث تسبب وقف تكاثره. وكتب كثير من الباحث عن حالات كثيرة لفساد الفيروس؛ نتيجة لتعرض الأجزاء النباتية المحتوية عليه للحرارة. فمثلاً يفسد فيروس *Sereh* قصب السكر عند غمر العقل المصابة لمدة ساعة في ماء حرارته ٥٠°م، كذلك فيروسات الاصفرار والنقط الحمراء وتورد الخوخ تفسد بحفظ الأشجار المريضة لمدة اسبوعين على ٣٠°م، كما وجد أن الفيروس يفسد أسرع عند وجوده في المجموع

فيروسات النبات

الخضري، عنه إذا ما وجد في الجذور. فشتلات الخوخ المصابة بالإصفرار يفسد فيها الفيروس كلية إذا ما حفظت مدة ٤٠ دقيقة على حرارة ٤٢م، أو ٤ دقائق على حرارة ٥٠م، وإذا حفظت درنات البطاطس المصابة بفيروس التفاف الأوراق لمدة ٢٥ يوماً على حرارة ٣٧,٥م.. فإن ذلك يؤدي إلى سلامة الدرنات.

٥ - الضوء:

الضوء كما أنه عامل مهم في حياة النباتات الخضراء، فهو ذو تأثير كبير في حياة الفيروس. ففي أوراق الدخان المحقونة والمحفوفة في الظلام يتكاثر فيروس موزايك الدخان ببطء ملحوظ عنه في حالة ما إذا حفظت هذه الأوراق في الضوء العادي، كما وجد أن تعرض النباتات لفترات متقطعة للظلام ثم للضوء يشجع من إنتاج الفيروس. والجدول (٦ - ١) يبين ذلك:

(جدول ٦ - ١): تأثير تبادل الإضاءة والإظلام على إنتاج الفيروس

(حسب سوخوف وكابستزا ١٩٥٠)

ظروف التجربة	عدد النقطة	متوسط النقطة الميتة على نصف ورقة	علاقة العامل الأول إلى الثاني
٢ (يومان) في الظلام ثم ٢ (يومان) في الضوء	٢٥٩٤	٢٥٩٤	٣٤ر-
٣ (أيام) في الضوء ثم ٢ (يومان) في الظلام	٦٠٠٦	٦٠٠٦	١٠٠ر-

وحسب ما هو واضح في الجدول السابق فإن متوسط عدد النقطة الميتة حيث الظلام يليه الإضاءة، أما الاستمرار في تعريض النباتات للضوء أو للظلام كان ذا تأثير واحد في كلتا الحالتين، ويلاحظ أنه في حالة ما إذا سبق الإظلام الإضاءة فإن التأثير يكون أقل. وذلك لأن الإظلام يزيد من قابلية إنتاج الفيروس، ويرجع أن السبب في ذلك مرتبط بانحلال البروتين Hydrolysis في الخلايا أثناء إظلامها، والذي يستعمله الفيروس لتمثيل بروتينه.

٦ - عمر النبات واتجاه التمثيل الغذائي :

يتوقف إنتاج الفيروس على عمر النبات وعمر أعضائه، وكذلك على مكان وجود الأنسجة فى ورقة أو أخرى.. ولقد وجد علام Allam عام ١٩٦١ أن تركيز فيروس موزايك الدخان يختلف باختلاف أعضاء نبات الدخان واختلاف عمرها.

أ - فى الأوراق يزداد تركيز الفيروس؛ حتى يصل إلى نهايته العظمى قبل دخول النبات فى طور الأزهار مباشرة، وبعد ذلك ينخفض التركيز.

ب - فى الجذور يزداد التركيز كلما كبر النبات، ويصل نهايته العظمى وقت الإزهار، ثم يبدأ فى الانخفاض.

ج - وكذلك يزداد التركيز فى الساق حتى يصل نهايته العظمى وقت الإزهار، ثم يبدأ ثانية فى الانخفاض.

د - يكون التركيز عالياً فى البراعم الزهرية لنبات الدخان قبل تفتحها، ثم يأخذ فى الانخفاض عند تفتحها.

ويوضح الجدول (٦ - ٢) تركيز الفيروس فى أجزاء النبات المختلفة، مقدراً بالطرق البيولوجية وبعد حقن النباتات بأسبوع ثم أسبوعياً حتى نهاية الإزهار.

جدول (٦ - ٢) : التركيز النسبى لفيروس موزيك الدخان فى الأجزاء المختلفة لنبات الدخان، وحسب أعمارها المختلفة وعلام ١٩٦١.

متوسط تركيز ألف. دس مقدراً بطريقة النقط الغليظة						
جزء النبات	بعد أسبوع من الحقن	بعد أسبوعين من الحقن	بعد ثلاثة أسابيع قبل خروج البراعم	بعد أربعة أسابيع قبل خروج البراعم	بعد خمسة أسابيع بداية الإزهار	بعد ستة أسابيع نهاية الإزهار
الأوراق	٣,٢	٥٧,٦	٢٥,٦	١١٥,٢	١١٥,٢	١٤٠,٨
الساق	١١,٢	١٧,٦	٣٨,٤	٤٦٠,٨	٦٧,٢	١٤,٤
الجذر	٥٧,٦	٧٦,٤	١٥٣,٦	٦١٤,٤	٥١,٢	٣٥,٢
الأزهار	-	-	-	٥١٢	٦٤	٢٥,٦

وعلاوة عما سبق يلاحظ من الجدول اختلاف تركيز الفيروس باختلاف الأعضاء، وأمكن تفسير زيادة تركيز الفيروس في أجزاء النبات المختلفة بزيادة عمرها حتى يصل نهايته العظمى عند نضج هذه الأجزاء، وتكون زيادة تكاثر الفيروس نتيجة لزيادة بناء المواد الغذائية في هذا السن.

أما انخفاض تركيز الفيروس في هذه الأعضاء بدخولها طور الشيخوخة، فلا يمكن تفسيره بانتقاله من هذه الأعضاء إلى أعضاء أخرى، ولكن يمكن تفسيره بتغيير اتجاه ميتابوليزم الأعضاء في سنّها المتأخر، أو حدوث تغيير في جزيئات الفيروس.

ولقد لاحظ Sadasivan, 1940 أنه في حالة إصابة أوراق نبات الدخان بالتساوى بواسطة سلالة فيروس موزايك الدخان العادى، تكون أكبر كمية للفيروس في الأجزاء الوسطى للورقة، ثم يقل تركيزه عند الاتجاه لقاعدة الورقة وأقل في قمة الورقة.

ثالثاً: فسيولوجى النبات المصاب بالفيروس:

Physiology of virus diseased plant

حيث إن الفيروس متطفل إجبارياً داخل الخلايا.. فإنه يسبب إعمالاً غير مرغوبة لميتابوليزم النبات. ويؤدى تجمع جزيئات الفيروس بكثرة فى الخلايا إلى ضياع أهم مواد التمثيل الغذائى فى الخلية، والتي هى ضرورية لبناء الفيروس بصفته نيوكليوبروتين.

وتظهر أهمية الإصابة الفيروسية بالمثل الآتى، وهو أن كمية بروتين فيروس موزايك الدخان فى النبات المصاب تصل إلى ١٠٪ من وزنه الجاف.. وتسبب الفيروسات الشديدة فساداً كبيراً فى ميتابوليزم الخلية لدرجة موتها مسببة نيكروزيس.. وأمام هذه الحالة غالباً ما يموت النبات.. وفى حالة الفيروسات المتوسطة القوة فإن النباتات المصابة تتحمل خسارة، وتكون الإصابة حادة Chronic، ويظل الفيروس داخل الخلايا حتى نهاية عمر النبات.

ولم يدرس فسيولوجى النبات المصاب دراسة واقية.. ويمكن الإضافة أيضاً أن هناك خلافاً مميزة بين الفيروسات المختلفة وتأثيرها على الأجناس المختلفة من النباتات، ولهذا لا يمكن ذكر قواعد عامة ثابتة فى هذا الموضوع، ولكننا سنتناول بعض التأثيرات على العمليات الحيوية فى النبات المصاب بقدر الإمكان.

أولاً: التنفس: Respiration

يمكن إعطاء امثلة منفردة لتأثير التنفس فى النباتات المصابة بأمراض فيروسية كالآتى:
وجد Sastri 1936 أن نبات الصندل المصاب بتشوه الاوراق يحتاج إلى زيادة ٥٠٪ أكسجين
عما فى حالة النبات السليم. كما وجد Grigsby 1938 أن ثأنى أكسيد الكربون المتصاعد
من أوراق المالينا المصابة بالموزايك يزيد بنسبة ٢١-٤٢٪ عن الكربون المتصاعد من الأوراق
السليمة. . وفى حالة الأمراض الفيروسية تتوقف درجة تأثير تنفس النباتات على طور
الإصابة، وكذلك العمر والوضع الفسيولوجى للنبات.

وكثيراً ما نقابل فى المراجع بنتائج عكسية لما سبق ذكره، فمثلاً وجد Gond 1928 زيادة
نسبة التنفس فى أوراق البطاطس المصابة بفيروس تجعد الأوراق، بينما سجل Muller
(1934), Kruger, and Pyervitch (1932) انخفاض التنفس. وهذه النتائج تتعارض حيث
إن البحات استعملوا فى تجاربهم نباتات من أصناف مختلفة متفاوتة العمر، وفى مناطق
تختلف ظروفها الجوية. ومن المعتقد أن شدة الفيروس لم تكن واحدة فى كل التجارب.

بناء على ما سبق يمكن القول أن التغيير فى تبادل الغازات فى حالة أوراق البطاطس
المصابة بالتجعد غير ثابت، ويمكن ألا يوجد فى حالة بعض الظروف. ومثل هذه النتائج
المختلفة حصل عليها فى حالة تقدير نباتات مصابة بفيروس موزايك الدخان.

فلاحظ بعض البحات مثل:

Daniel 1930, Glaston, 1942, and Lohr and Muller 1952, Koldvel
تنفس النباتات المصابة، بينما لاحظ البعض الآخر انخفاض التنفس، Mckleon 1957,
Lemmon 1953 وآخرون لم يلاحظوا اختلافاً فى تنفس النباتات المصابة عن تنفس
النباتات السليمة.

كل هذا يعطى أساساً للاقتراح بأن عملية التنفس فى حالة بعض أمراض النباتات
الفيروسية لا يحدث لها تغيير ملموس، وإذا ما حصلت تغيرات فإنها غير مؤكدة، وليست
دليلاً على بداية الإصابة.

وإذا ما نظرنا للتنفس على أنه بداية القوة energy الضرورية لتمثيل كل النيوكليوبروتين المتكون في الخلايا بالمصابة، فإنه ليس من الضروري وجود الزيادة الملحوظة لمستوى التنفس في الخلايا المصابة؛ حيث إن البروتين في كلتا الحالتين واحد تقريباً، إذ يكون تجمع الفيروس على حساب نيوكليوبروتين الخلايا الذي تقل كميته، ولكن الكمية العامة للنيوكليوبروتين تظل ثابتة نسبياً، ورغم أنه في بداية الإصابة فإن تمثيل النيوكليوبروتين ومستوى التنفس دائماً ما يرتفع.

ثانياً: الإنزيمات المؤكسدة: Oxidative enzymes

لاحظ Woods (1899) زيادة ملحوظة في عمل إنزيم الأكسديز في نباتات الدخان المصابة بالموزايك. كما وجد Kokin (1937) أنه في حالة وجود هذا المرض يزداد نشاط البيروأكسيديز. ولاحظ هذا أيضاً Bunzel (1913) في حالة إصابة بنجر السكر بفيروس تجمعد القمة. ولاحظ Oparin (1929) هذا في حالة موزايك بنجر السكر، كما لوحظ أيضاً في حالة فيروس تجمعد أوراق البطاطس وفيروس برونز الطماطم.

ويزيد نشاط إنزيمات التحلل المائي في حالة الدخان Vager (1955) وموزايك تجمعد أوراق البطاطس Kyprevitch (1947) ويقل نشاط الكتاليز في حالة الأمراض الفيروسية، وهذا واضح في أمراض موزايك الدخان والطماطم وموزايك البطاطس.

ثالثاً: التمثيل الضوئي: Photosynthesis

في حالة كثير من الأمراض الفيروسية، تقل كمية الكلوروفيل في البلاستيدات الخضراء، ولهذا تظهر مظاهر الموزايك والكلوروفيل العام، ففي حالة إصابة نباتات الدخان بالموزايك يقل الكلوروفيل بنسبة ٢٥-٥٥% حسب السلالة المسببة.

ووجد علام وآخرون سنة ١٩٧٤ نقص محتوى الكلوروفيل الكلى لنباتات الدخان المصابة بفيروس موزايك الدخان، ولا سيما في الأصناف الشديدة الحساسية للإصابة بهذا الفيروس، ويتضح ذلك من الجدول (٦ - ٣):

جدول (٦ - ٣) : % للمحتوى الكلورفيللى فى أصناف مختلفة

من الدخان أصيبت بفيروس موزايك الدخان .

الأصناف						
المعاملة	Hicks	N.C. 95	Harison	White gold	Kuntaky	Burley
سليم	٠,١٣	٠,١٣	٠,١٤	٠,١٤	٠,١٠	٠,١٢
مصاب	٠,٠٦	٠,٠٥	٠,٠٩	٠,٠٨	٠,١٠	٠,١٢

وفى حالة تجعد البطاطس تقل كمية الكلوروفيل فى أوراق متوسطة العمر بنسبة ٢٤-٣٦%، وتنخفض قوة التمثيل الضوئى بنسبة ٣٠% فى المتوسط . وفى حالة الموزايك فى البطاطس يمكن ان تنخفض قوة التمثيل الضوئى إلى ٣٠%.

رابعاً : تمثيل الكربوهيدرات : Carbon assimilation

يحدث تغير لعملية تمثيل الكربوهيدرات فى حالة إصابة النبات بالفيروس، فمثلاً تنخفض كمية الكربوهيدرات فى الأوراق المصابة بالموزايك، بينما تزداد فى حالة إصابتها بالاصفرار . وتنتمى للموزايك أمراض موزايك الدخان وموزايك البطاطس وموزايك الخيار، وتنتمى للاصفرار أمراض التفاف أوراق البطاطس، وستلبور العائلة الباذنجانية، اصفرار بنجر السكر، تجعد الشعير، موزايك القمح الشتوى، وكثير من الأمراض الأخرى .

فى الخطوات الأولى لإصابة أوراق نباتات الدخان بفيروس موزايك الدخان، فإن تأثير الفيروس يلاحظ فى الكربوهيدرات أولاً وبالأخص فى النشا الذى يكشف عنه بواسطة اليود، باستمرار المرض فى تقدمه يلاحظ قلة كمية الكربوهيدرات فى الأوراق المصابة عن كميتها فى أوراق النباتات السليمة . ويؤدى موزايك بنجر السكر إلى انخفاض كمية السكر فى ثماره الجذرية . لوحظ فى تجعد أوراق البطاطس، وتجعّد الحبوب وستلبور العائلة الباذنجانية، واصفرار بنجر السكر .

وربما يكون سبب تجمع الكربوهيدرات فى أوراق النباتات المصابة بالاصفرار، هو عدم

انتقالها إلى الأجزاء الأخرى، وكذلك قلة استعمال الأوراق لها، وطبيعى أن يرتبط عدم انتقال الكريوإيدرتات إلى الأجزاء الأخرى من النبات بتوقف وظيفة اللحاء؛ إذ يلاحظ وجود نيكروزيس فى لحاء النباتات المصابة بفيروس تجعد أوراق البطاطس أو فيروس تجعد الحبوب.. أما فى حالة الإصابة بفيروس ستيلبور الطماطم، فإنه لا يلاحظ نيكروزيس، ولكن يلاحظ تغير تشريحي فى أنسجة اللحاء.

خامساً: تمثيل الأزوت: Nitrogen assimilation

وجد أنه فى حالة تجميع جزيئات فيروس الموزايك فى أوراق نبات الدخان المنفصلة بظل مستوى البروتين الأزوتى دون تغيير رغم ما يحدث للبروتين من تحلل مائى. وفى حالة تجمع الفيروس فى النباتات التى تحصل على تغذية جيدة، لوحظت زيادة فى كمية البروتين الأزوتى عما هو فى نباتات المقارنة، كما تظل فاعلية إنزيم البروتينيز كما هى دون تغيير.

ووجد علام وآخرون أن المحتوى النسبى من النيتروجين الكلى قد ازداد فى أنسجة أوراق وساق وجذور نباتات الدخان، نتيجة للعدوى الصناعية بفيروس موزايك الدخان حتى عمر مائة يوم، ولوحظت زيادة فى المحتوى النسبى للنيتروجين الذائب نتيجة للعدوى الصناعية بالفيروس فى الفترة الأولى من حياة النبات، وتوقفت هذه الزيادة فى العمر الثانى من النبات، وعلى العكس من ذلك وجد هناك زيادة فى المحتوى النسبى من النيتروجين غير الذائب، وكذلك النسبة بين النيتروجين غير الذائب فى العمر الثانى من النبات.

يشكل نيوكليوبروتين الفيروس بحوالى ١٠٪ من الوزن الجاف للبروتين الذائب وغير الذائب لأوراق الدخان المصابة (حسب بودن وبيرى ١٩٤٦)، كما وجد Komner 1952 أن كمية الأزوت غير البروتينى تقل كميته فى النبات المصاب عنه فى النبات السليم.

وتتوقف العلاقة بين الكربون والأزوت C/N فى النباتات المصابة واختلافها عنها فى النباتات السليمة على سلوك المرض نفسه. ففى حالة أمراض الموزايك تقل هذه النسبة، أما فى حالة الاصفرار فتزيد النسبة، ويكون التغير فى كمية الكريوإيدراتات فى النباتات المصابة العامل الأساسى فى اختلاف النسبة، رغم أنه مرض تجعد الحبوب Striate يحدث بجانب

الزيادة في كمية الكربوهيدرات في الاوراق انخفاض في البروتين الآزوتى .

وفي حالة موزايك الدخان تزداد الاحماض الامينية الحرة في الأنسجة، وبالاخص
أحماض الاسبرجين، فبتحليل المستخلص الذائب للاوراق المصابة بالموزايك لوحظ على ورق
الكروماتوجرافى أحماض هستدين، ليسين والاسبرجين التى لم تحفظ فى الاوراق السليمة .

سادساً : النتح : Transpiration

لم تدرس هذه الناحية الدراسة الكافية فى النباتات المصابة بالامراض الفيروسية . لوحظ
فساد واضح فى الاتزان المائى بنباتات البطاطس، والفلفل وأصناف كثير من الباذنجان المصابة
بفيروس ستيلبور؛ مما يؤدى إلى آثار باثولوجية حادة تنتهى بذهول وموت النباتات . وربما
يرتبط سبب الذبول بإصابة المجموع الجذرى إلا أن هذا لم يدرس جيداً .

سجل كوبرفيتش (١٩٣٤) زيادة النتح فى حالة البطاطس المصابة بالموزايك، ووجد
Kohin (1939) عكس ذلك فى حالة موزايك الدخان، كما وجد ذلك أيضاً كوبرفيتش
(١٩٤٣) بالنسبة لتجمع أوراق البطاطس .

سابعاً : النمو : Growth

توقف النمو يظهر كأوضح وأهم مظهر إصابة لأمراض النباتات الفيروسية، وتسبب بعض
الفيروسات ضعفاً كبيراً لنمو النبات . ومن هذه الفيروسات فيروس التجعد وفيروس الاصفرار
فى البطاطس، وفيروسات أخرى وينتج قصر النبات عن نقص فى طول الخلايا، كما تقل فى
نموها فمثلاً النموات الخيطية لدرنات البطاطس المصابة بفيروس ستيلبور، تتكون من خلايا
مختزلة حيث تظهر كميتها فى القطاع العرضى، أقل منها فى حالة النموات الناتجة من
الدرنات السليمة، واختزال ويكون صغر حجم النبات المصاب نتيجة لفساد فسيولوجى عام،
وكما يظهر فهو أقل ارتباطاً بالتغير فى المحتويات المنشطة للنمو .

الفصل الثاني

مظاهر الإصابة الفيروسية

Symptoms Of Virus Infection

يختلف تأثير النباتات بالإصابة بالفيروس من آثار بسيطة إلى موت سريع. والفيروسات متطفلة إجبارياً، وإذا قتلت عوائلها فهي في الوقت نفسه تحد من وجودها، إلا أنها تسبب أمراضاً مزمنة أكثر من تسببها لأمراض مميتة، فإذا انتشر الفيروس في عائل مسبباً له الموت السريع، يكون في الوقت نفسه له القدرة على إصابة عوائل أخرى لا يؤدي إلى موته.

وعند دخول الفيروس الخلية النباتية يتضاعف فيها، وقد ينتشر داخل أعضاء النبات المختلفة، وتكون الإصابة نتيجة لذلك عامة Systemic infection تعطى مظاهر إصابة عامة باجزاء النبات المختلفة Systemic Symptoms.

وقد يكون النبات حساساً للفيروس (hypersensitive) تنحصر الإصابة في منطقة دخولها، دون أن تنتشر إلى الأجزاء المختلفة من النبات، وتسمى في هذه الحالة إصابة موضعية Local infection، تؤدي إلى مظاهر إصابة محلية Local Symptoms. وللإصابة الفيروسية أوجه عدة فقد يحدث فوراً، وبعد حدوث الإصابة وانقضاء فترة الحسوف Eclipse period ظهور حالة شديدة من المرض، وتسمى هذه بالوجه الحاد للإصابة Shock Phase or acute case، والتي أحياناً ما تؤدي إلى موت النبات، فتسمى إصابة مميتة Lethal infection، ولكن عادة ما يعيش النبات ويبدأ ظهور وجه آخر من أوجه الإصابة، وهو الوجه المزمن؛ أي إصابة مزمنة Chronic infection وفيه تظهر على الأجزاء الحديثة من النبات مظاهر إصابة أقل شدة مما ظهرت في الوجه الحاد من الإصابة. وربما يحمل بعض الشفاء للنبات المصاب أو شفاء تام recovery، وقد يتبادل الطوران أو وجهها الإصابة الوضع، وهذا واضح في بعض أمراض الفاصوليا؛ إذ تظهر على بعض من الأوراق مظاهر حادة شديدة، ثم تخرج مجموعة أخرى من الأوراق مظاهر إصابة خفيفة و... هكذا.

وبمثل هذه الحالة أيضاً مظهر التبقع الحلقي Ringspot، وأحياناً لا تؤدي الإصابة الفيروسية إلى مظاهر إصابة مرئية، ويسمى هذا بغياب المظاهر الخارجية inapparency of symptoms، وكان جيمس جونسون عام ١٩٢٥ James Johnson أول من وجه النظر لهذه الظاهرة؛ إذ وجد الفيروس في نباتات بطاطس شبه سليمة، ومنذ ذلك الوقت وأخذت قضية تخفى مظاهر الإصابة الخارجية انتبهاً خاصاً، خاصة لا ارتباطها بالنباتات التي تتكاثر خضرياً وتعطى الشهادات certified seeds، وكذلك فلهذه الصفة أهمية بالنسبة للإصابة الفيروسية، فهي تمثل مشكلة عامة في مقاومة هذه الأمراض؛ إذ إن مثل هذه النباتات التي تظهر سليمة تمثل نقطة انطلاق، تنتشر منها الإصابة إلى النباتات المجاورة القابلة للإصابة، سواء من النوع نفسه أو من أنواع نباتية أخرى. وتوجد فيروسات عديدة لها عوائل لا تظهر مظاهر خارجية نتيجة للإصابة، وقد يطلق على هذه الحالة الإصابة المتخفية (Latere = to lie hidden)، وليس لهذه العوائل القابلة للإصابة حساسية معينة، ولكن لها قوة تأثير على الفيروس يجعلها لا تظهر تأثيراً ظاهرياً للإصابة، وتسمى مثل هذه النباتات carrier hosts أى حاملة للإصابة، مثل فيروس الموزايك المتأخر للحامول Dodder Latent Mosaic V.، وفيروس القرنفل المتأخر Carnation latent V. وربما وفي بعض الأحيان تختفى مظاهر الإصابة الخارجية لوقت ما، فتظهر الأجزاء النباتية المتكونة حديثاً خالية من المظاهر الخارجية. ولكن قد تعود المظاهر بعد وقت، وتسمى هذه الظاهرة بالتخفى masking، وغالباً ما تسبب الظروف الجوية مثل الحرارة والضوء هذه الحالة، ومن أمثلتها: فيروس تقزم البرقوق Prune Dwarf V.؛ حيث يختفى المرض في البرقوق الإيطالي إذا ما تعرض لحرارة أعلى من ١٣ م°، وكذلك فيروس X البطاطس حيث تختفى مظاهر الإصابة في الحرارة والضوء الشديد.

وإذا اختفى المرض بصفة دائمة فتسمى هذه الحالة شفاء recovery رغم وجود الفيروس بداخل النبات مثل فيروس التبقع الحلقي في الدخان T. Ring Spot ويعبر عن هذه الحالة بالمناعة المكتسبة Acquire immunity، وغير معروف طبيعة هذه الحالة عن حالة Latency بوجود مظاهر الإصابة على الأجزاء القديمة المسنة من النبات.

وفى حالة الفيروسات التى تنتقل خلال البذور أو التقاوى (البطاطس والفاصوليا) يستعمل اصطلاح الإصابة الأولية Primary infection للإصابة التى تظهر مظاهرها فى موسم الإصابة نفسه، والإصابة الثانوية Secondary infection للإصابة الناتجة من زراعة بذور أو تقاوى مصابة.

فمثلاً فى حالة فيروس التفاف الأوراق فى البطاطس PLRV، فإن الإصابة الأولية هى التى تظهر مظاهر إصابتها فى الموسم نفسه، والإصابة الثانوية، أو الطور الثانوى هو ظهور الالتفاف على أوراق النباتات الناتجة من زراعة درنات مصابة.

وتنشأ أعراض الإصابة الفيروسية نتيجة لحدوث تغيرات فى التفاعلات الكيميائية الحيوية، التى تأخذ مجراها فى النبات، وذلك لوجود مجاميع كيميائية خاصة فى تركيب جزئ الفيروس، وتختلف الأعراض التى تحدثها الفيروسات باختلاف تلك المجموع وعوائلها والظروف المحيطة.

وتسبب الإصابة الفيروسية وتنعكس على النباتات على هيئة تغيرات أو مظاهر خارجية، يمكن رؤيتها بالعين المجردة، وأخرى داخلية فى النباتات المصابة، من أهمها :

١ - تغيرات كيميائية Chemical Disorders.

٢ - تغيرات سيتولوجية وتشريحية Cytological & Anatomical Disorders.

٣ - وجود أجسام داخلية غريبة عن النبات Inclusion Bodies.

٤ - وجود جزيئات فيروسية تمثل الفيروس.

وستتناول هذه المظاهر الناتجة عن الإصابة الفيروسية بشئ من التفصيل كالاتى:

أولاً : التغيرات الكيميائية : Chemical Disorders

كما سبق القول فإنه بدخول الفيروس إلى أنسجة النبات يسيطر على العمليات الكيميائية الحيوية التى تجري ويسخر النبات أولاً لتخليق المواد التى يستخدمها فى مضاعفته، هذا بجانب أن بعض الفيروسات تسبب تكوين محتويات داخلية وحدوث

تغيرات كيميائية، قد تنعكس على هيئة مظاهر إصابة مرئية أو محسوسة، مثل:

١ - النقص فى محتوى الكلوروفيل والزيادة فى تركيز الكاروتين والاكزانثوفيل Xanthophylls التى تؤدى إلى تغير فى لون الأوراق، كما أنه بدراسة مقارنة نباتات الدخان وايت بيرلى White Burley المصابة بالموزايك والسليمة، وجدت زيادة فى حمض المالك Malic acid، ونقص ملحوظ فى حمض Succinic acid، كذلك فإن زيادة تركيز صبغة الانثوسيانين anthocyanins فى الخلايا ربما تتأثر نتيجة للإصابة الفيروسية، ويتبع هذا ظهور لون أحمر غير عادى، أو ألوان أرجوانية تظهر على الأوراق، أو على الأزهار. وكذلك فى حالة موت الأنسجة يظهر مركب قاتم من الميلانين dark - coloured melanins.

٢ - ويوجد تغير كيميائى له أهمية من الناحية التشخيصية، وهو إفراز المواد الشبيهة بالصمغ Gummosis أى إفراز مواد بنية محمرة، وهذه مثلاً تعتبر مظهراً تشخيصياً (مميزاً) لمرض موزايك البرسيم الأبيض White clover mosaic ومرض القوباء فى الموالح.

٣ - ويوجد أيضاً تغير كيميائى معروف هو التجمع غير الطبيعى للنشا فى الأوراق، والذى ينشأ عنه زيادة سمك الورقة والتفافها، كما هو الحال بالنسبة لفيروس التفاف أوراق الكمثرى Pear leaf roll، وفيروس التفاف أوراق البطاطس PLRV، وفيروس اصفرار بنجر السكر Sugar beet yellows، ويمكن تعرف هذا التجمع من النشا بسهولة بواسطة اختبار اليود iodine - potassium iodide بعد إزالة الكلوروفيل من الورقة بواسطة الكحول.

وكان يعتقد لوقت طويل أن ضعف انتقال النشا يرجع إلى وجود نيكروزيس فى اللحاء، إلا أن تجارب Hanke 1957 على فيروس اصفرار بنجر السكر أوضحت أن انتقال الكربوهيدرات يعطل نتيجة لنشاط غير عادى لإنزيم الفوسفاتير Phosphatase، وأن التغيرات التشريحية تلاحظ فقط بعد أن يقل انتقال الكربوهيدرات.

٤ - وتغير كيميائى آخر هو ما اتضح من عمل قطاعات فى أفرع التفاح خاصة صنف

لامبرون Lambourne وصنف لورد Lord المصابة بفيروس الخشب المطاط Rubbery Wood، إذ وجد بعد عمل هذه القطاعات وصيغها بواسطة حمض الهيدروكلوريك hydrochloric acid وصيغة فلوروجلويسينول Phloroglucinol ظهور مناطق كبيرة لونها خفيف، اتضح أن جدر خلاياها سميكة نتيجة لترسب السليلوز Cellulose بدلاً من اللجنين، وأدى هذا إلى مرونة كبيرة للأفرع تجعلها مطاطة. ويوصف هذا التغير غير الطبيعي بأنه الأفرع الخشبية المطاطة Rubbery Wood Symptoms، وتوجد هذه المظاهر على الأشجار المسنة، والتي تسمى Weeping habit، حيث تميل الأفرع الصغيرة تحت ثقلها وثقل المحصول.

ثانياً : التغيرات السيتولوجية والتشريحية :

Anatomical & Cytological Deviations

وهو تغير في الوحدة الأساسية وهي الخلية. وربما ينظر إلى التغير الذي يحدث في الخلايا على أنه تغير تشريحي، ولكنه أيضاً ذو طبيعة كيميائية Histochemical deviations. ويجب أن يكون مفهوماً أنه رغم أن هذه التغيرات تكون واضحة في الأنسجة، إلا أن لبعضها أصلاً وراثياً، ولذلك أطلق على هذه التغيرات مصطلح التغيرات السيتولوجية Cytological deviation.

لا يعرف الكثير عن تأثير الفيروس على شكل Shape الخلايا، ولكن المهم هو تأثير الفيروس على حجم Size وعدد number الخلايا. وهذا يأخذ أشكالاً عدة يطلق على كل منها اصطلاح خاص به كالآتي:

١ - اصطلاح Hypertrophy (Cr. hyper = over), trephein - to nourish)

ويستعمل هذا الاصطلاح للزيادة غير الطبيعية في حجم النسيج نتيجة للزيادة غير الطبيعية للخلية، ويمكن استعماله أيضاً للزيادة غير الطبيعية للأعضاء.

٢ - Hyperplasia وهو الزيادة غير الطبيعية في عدد الخلايا (Gr. Plassein to mold)

أما عندما تكون الزيادة في عدد الخلايا غير محدودة تقريباً، كما في حالة النموات

الدرنية Tumors فيستعمل اصطلاح cell proloferation .

٣ - Hypoplasia (Gr. Hypo = under or less than ordinary)

ويشير الاصطلاح إلى تكوين عدد أقل من الخلايا أو الخلايا الأصغر حجماً، ويستعمل أيضاً في حالة صغر حجم الأعضاء .

٤ - Atrophy يستعمل هذا الاصطلاح في حالة عدم كبر الخلايا أو الأعضاء؛ نتيجة لعدم تكاثر الخلايا أو عدم زيادة حجمها .

٥ - وقد لوحظ أن التأثير على عدد وحجم الخلايا دائماً ما يؤدي إلى تشوه الأعضاء Malformation

٦ - ومن التغيرات السيتولوجية تغير عادي دائماً ما يوجد في النباتات المصابة، وهو زيادة تكوين زوائد tyloses كما في أوعية الخشب الحية في العنب المصاب بمرض بيرس Pierce's dis. وهذا يؤدي إلى اختزال النمو وذبول النباتات .

تظهر زوائد من الخلايا الحية البارانشيمية للخشب Wood parenchyma، ومن خلايا الأشعة الوسطى medullary rays وتمر هذه النموات خلال النقر Pits في جدار الوعاء وتنتفخ إلى بالونات Bladders ذات جدار رقيق في Lumen الوعاء .

٧ - وهناك تغير آخر تركيبى وهو تكوين الفلين Cork formation .

٨ - وتغير ثامن هو الصلابة turgidity .

٩ - والالتصام الكلى للخلايا collapse ويحدث هذا نتيجة لنقص الرطوبة في الخلايا .

١٠ - وتغير ينتج عنه موت الخلايا، ويسمى

necrosis (Gr. nekroun - to make dead) .

ثالثاً : المظاهر الداخلية للإصابة : Internal Symptoms

التغيرات التي تحدث داخل النباتات المصابة بالفيروسات تكون على نوعين : النوع الاول

هو تغير فى الأنسجة العادية او كمحتويات الخلية والنوع الثانى هو إنتاج أجسام داخل الخلايا المصابة لا توجد فى الخلايا السليمة.

أ - المحتويات الفيروسية داخل الخلايا : Intracellular inclusions

هذا النوع من التغير أكثر تمييزاً للأمراض الفيروسية، إذ إن هذه المحتويات لا توجد مصاحبة لآى مرض معدٍ خلاف الأمراض التى تسببها الفيروسات. إنها توجد فى الحيوانات والنباتات المصابة ببعض الفيروسات، ودون شك فإنها نتيجة مباشرة للإصابة الفيروسية، وينظر إليها بعض الباحث كاطوار فى حياة المسبب، والبعض الآخر يعتبرها كتلاً تجمع بروتين النبات.

وكان إيفانوفسكى أول من اكتشف بلورات الفيروس أثناء عمله على مرض موزايك الدخان، وقدم رسومات تمثل المحتويات البلورية فى أوراق الدخان المصاب، هذه المحتويات تسمى حالياً بلورات إيفانوفسكى. كذلك كان إيفانوفسكى أول من كتب عن وجود محتويات أخرى غير بلورية الشكل (أميبية الشكل) والمشهورة فى المراجع تحت اسم أجسام X.

ورغم أن وجود هذه المحتويات يعتبر مميزاً للفيروس، إلا أنها لا توجد مصاحبة لكل الأمراض الفيروسية، فمثلاً لا تلاحظ فى حالات الإصابة بفيروس التفاف أوراق البطاطس وفيروس تجمع أوراق الطماطم واصفرار الاستر، وبعض الفيروسات الأخرى، كما فى الجدول رقم (٦ - ١).

ويعتمد إنتاج المحتويات الداخلية على الفيروس المسبب أكثر من الاعتماد على العائل المصاب، فمثلاً لوحظت بكثرة فى عدد كبير من النباتات المصابة بفيروس موزايك الدخان، وتعذر رؤيتها فى هذه النباتات نفسها عند إصابتها بفيروس موزايك الخيار، رغم أن مظاهر الإصابة الخارجية بالفيروسين تكاد تكون متشابهة.

ويبلغ حجم المحتويات الداخلية من ٥ - ٣٠ ميكرون.

وتختلف الأشكال البلورية المميزة للفيروسات المختلفة، فمثلاً وجود بعض سلالات

فيروس موزايك الدخان يكون بلورات، يمكن تمييزها بسهولة.

وتكون البلورات ذات أشكال منها:

١ - صفائح سداسية Irregular Hexagonal Plates، كما في فيروس موزايك الدخان.

٢ - بلورات أيزومترية Isometric Crystals مثل فيروس موزايك البسلة.

٣ - بلورات مغزلية Spindle Shaped bodies مثل فيروس الصبار.

٤ - بلورات إبرية Needle Shaped Fibres مثل موزايك الدخان.

ونادراً ما توجد المحتويات البلورية داخل النواة intranuclear inclusions في النباتات المصابة بالفيرس. وقد وجدها Kassanis 1939 في نباتات الدخان وبعض النباتات الأخرى المصابة بفيروس etch.

وربما يوجد أكثر من بلورة داخل النواة، كما هو الحال في البقوليات المصابة بفيروس موزايك البسلة أو الموزايك الأصفر للفاصوليا؛ حيث وجد Mc Whorter عام ١٩٤١ أكثر من خمس بلورات.

تبع Tcex عام ١٩٥٤ عملية تكوين بلورات إيفانوفسكى في الخلايا، وكتب عنها الآتي:

يظهر أولاً في بروتوبلازم الخلايا المصابة فقاعات متلاصقة كثيفة، يصل قطرها إلى بضع ميكرونات. ترتبط هذه الفقاعات وتلتصق ببعضها وتصبح ذات سيمتريه وكالمراة، ثم تنمو مكونة بلورات مستديرة مبتدئة من الخارج إلى الداخل، متحولة تدريجياً إلى صفائح سداسية. هذه الصفائح تكون في بادئ الأمر رقيقة، وتتكون من عدد غير كبير من الطبقات ثم يزداد عدد طبقاتها باطراد النمو.

وذكر أيضاً أنه في أثناء حياة الخلايا فإن البلورات أحياناً ما تتعرض إلى أن تسيل (تذوب) وتتحول إلى تركيب خيطي.

المحتويات الأمورفية أو أجسام X توجد في كثير من الأمراض الفيروسية. وقد ثبتت

علاقتها بالإصابة الفيروسية، كما هو الحال في الإصابة بفيروس موزايك الدخان وفيروس النقط الحلقيّة الدخان .

وتتركز الأهمية في التشخيص على هذه المحتويات الأمورفية؛ حيث إنها تختلف بوضوح عن باقي محتويات الخلية .

يتضح من دراسة مورفولوجي أن أجسام X التي تكونها فيروسات مختلفة تكون غير متشابهة، فبعض السلالات لفيروس موزايك الدخان وفيروس برونز الطماطم وفيروس تقزم الأرز، وفيروس موزايك التيلوب، وفيروسات أخرى تكون فيها أجسام X ذات بناء هش، يحتوى على فراغ أو أكثر. وفيروس تجمع قمة بنجر السكر وفيروس موزايك البصل تكون أجسام X فيها متلاصقة دون فقايق أو فراغات .

للموسط الموجود به الفيروس تأثير على شكل المحتويات الداخلية؛ فمثلاً يكون فيروس موزايك الدخان داخل الخلايا النباتية بلورات سداسية الشكل، ولكنه في حالة إضافة كبريتات أمونيوم إلى عصير النبات المصاب . . فإنه يترسب على هيئة باراكريستال، ويكون فيروس X البطاطس داخل الخلايا أجساماً أميبية الشكل، أو في حالة صبه في أنابيب فإنه يعطى راسباً أمورياً وفي بعض الحالات فإنه يكون سائلاً بلورياً .

ويمكن أن تتغير الأشكال المختلفة للمحتويات الفيروسية طبقاً لخواص بروتوبلازم الخلايا . فمثلاً نجد أن فيروس Striate Mosaic يكون في خلايا نباتات الشوفان المصابة محتويات على هيئة بلورات إبرية طويلة متراصة، ويكون في خلايا نبات Couch Grass quak grass (*Agropyrum tenerum*) الزاحف بلورات مغزلية الشكل Spindle Like، ويكون في النسيج الداخلي للحشرة الناقلة *Liburoia striatella* محتويات أمورفية مفرغة .

وتكون سلالة فيروس الدخان المسماة Aucuba Mosaic V. في خلايا كثير من أصناف النباتات التابعة لعائلات مختلفة، في ثلاث أشكال مختلفة من المحتويات الفيروسية، وهي أجسام X الأمورفية، باراكريستال إبرية وصفائح بلورية سداسية . وفي خلايا نبات *Dallinsia bicolor* المصاب بهذا الفيروس تتكون أجسام X الأمورفية فقط .

قد يكون للعمليات التحضيرية التي تجرى عند تحضير العينات النباتية المصابة لفحصها

تأثير في تكوين محتويات داخلية، كما هو الحال في حالة تأثير محاليل الاملاح الحمضية المستعملة في تثبيت Fixation أنسجة نباتات القمح المصابة بفيروس موزايك القمح الشتوى المعروف بأنه لا يكون محتويات داخلية، إذ يظهر فيها أجسام باراكريستال كبيرة.

ويخلص عمل جولدن 1954 Golden عن موضوع المحتويات الفيروسية داخل خلايا النبات المصاب في الآتى:

١ - مجموعة الاجسام الاميبية أو أجسام X ليست من أصل واحد، وكل ما هو معروف لأن أنها تكوين بروتيني ولكن طبقاً لخواصها الكيماوية والطبيعية فإنها مختلفة كلية. وفي حالة الإصابة بفيروس موزايك الدخان، فإن تكوين هذه المحتويات في الخلايا الحية لا يتبع الطريق نفسه الذى تتبعه تكوين أجسام X الخاصة بالموزايك الأصفر، من حيث الذوبان، الشكل، المحتويات، تطورها ونموها، وخلايا النبات حيث يختلف كل عن الآخر اختلافاً كلياً.

٢ - حيث إن ظهور المحتويات الفيروسية في خلايا النبات يأخذ طرقاً مختلفة: فعند تكون محتويات أحد الفيروسات يمكن أن يلعب أحد العوامل دوراً لا يلعبه عند تكوين محتويات الفيروس الآخر، مثل: عمر النبات عند المرض، عوامل خارجية، ولذلك فإنه يسلك طريقاً آخر عند تكوينه.

٣ - المحتويات الفيروسية توجد حيث توجد الجزيئات الفيروسية.

٤ - يدل مورفولوجى المحتويات الفيروسية في خلايا النباتات المختلفة على أن لكل فيروس علامات مميزة (محتويات)، ولا تتوقف في كل الحالات على الخواص الفردية للعائل.

٥ - المحتويات الفيروسية ذات مناعة عالية للظروف الخارجية، ولهذا فيمكن الاعتماد عليها في حالة دراسة فيروسات الامراض النباتية المختلفة.

٦ - المحتويات البلورية قادرة على التغير في الخلايا الحية، ولكن لكى يحصل هذا فلا بد من توفر ظروف خاصة.

٧ - المحتويات المختلفة ذات مقاومة عالية من حيث الشكل والتركيب، وفي حالات نادرة يحصل لها تغيير.

- ٨ - تمثل بلورات إيفانوفسكى جزيئات فيروسية بروتينية.
- ٩ - تمثل المحتويات البلورية داخل الخلايا تركيزاً للفيروس، فهناك علاقة متينة بين وجود هذه المحتويات وتركيز فيروس موزايك الدخان فى خلايا النبات.
- ١٠ - تنتشر المحتويات البلورية الناشئة نتيجة للإصابة بموزايك الدخان داخل الخلايا بكميات مختلفة حتى أنه فى خلايا النسيج الواحد تكون كميتها مختلفة.
- ١١ - يؤكد العلماء الروس باستمرار أهمية المحتويات الفيروسية لتقسيم وتمييز الفيروسات النباتية، فيذكر Golden باستمرار أن المحتويات الفيروسية يمكن أن تعتبر اختباراً مؤكداً. وحسب تجاربه امكنه القول أنه يمكن اعتبار تحليل المحتويات الفيروسية وسيلة واسعة الانتشار للملاحظة وتقدير وتقسيم الفيروسات المختلفة ودراسة خواصها الأساسية، كما أنه يمكن استعمالها كطريقة للكشف عن الفيروسات المتخفية Masked V.
- تعتبر شيفيلد Sheffield ١٩٤٨ أن المحتويات تتكون من بروتين الفيروس. وأوضح Steere & Williams عام ١٩٥٣ بواسطة عزل المحتويات والفحص والميكروسكوب الإلكتروني أن البلورات ما هي إلا جزيئات فيروسية ومذيب طيار.
- وتمكن براندز Brandes عام ١٩٥٦ بواسطة القطاعات الرفيعة / Ultrathin Sections من أن يجد أجسام X فيروس موزايك الدخان تتكون من جزيئات فيروسية فى ترتيب غير عادى Irregular Arrangement، ومحاطة تقريباً بغشاء Membrane، وعلى عكس هذا فى المحتويات البلورية حيث تظهر ترتيباً منتظماً Regular بلورياً للجزيئات الفيروسية. ووجد أن الأشكال المغزلية Spindles التى عثر عليها فى نباتات الصبار تحتوى على جزيئات فيروسية معدية فى ترتيب مميز.
- أما كيف تجمعت جزيئات الفيروس فى هذه التركيبات فهو أمر غير معروف.
- وأطلق Mc Whorter عام ١٩٤١ اسم Viroplasts على المحتويات الداخلية، ووجد Kassanis & Sheffield عام ١٩٤١ أن المحتويات الداخلية يمكن أن توجد مستقلة، كما يمكن أن تتحول المحتويات الأمورية إلى محتويات بلورية.

فحص الأجسام الأميبية والبَلُورية لفيروس موزايك الدخان :

يمكن رؤية الأجسام البَلُورية لفيروس موزايك الدخان بوضوح فى شعيرات أوراق نبات الدخان المصاب باتباع الآتى :

١ - يعمل بواسطة حافة موسى حاد سلخ بسيط فى عرق على السطح السفلى للورقة المصابة .

٢ - يوضع السلخ بسرعة وباحتراس - حتى لا تتكسر شعيراته - فى نقطة ماء على شريحة زجاجية، ويغطى بغطاء زجاجى .

٣ - يفحص التحضير أولاً فى تكبير ٢٥٠ - ٣٠٠ مرة والشعيرات، التى يلاحظ بها محتويات زجاجية المظهر تفحص بتكبير أكبر .

فى حالة الإصابة بفيروس موزايك الدخان العادى، يمكن أن تلاحظ صفمحة أو أكثر رقيقة ذات منظر زجاجى وشكل سداسى فى جميع خلايا الشعيرات، ورؤية مثل هذه المحتويات تؤكد وجود الفيروس فى حالة الإصابة بسلالات مختلفة من فيروسات هذه المجموعة . ويلاحظ فى أول خلايا من قاعدة الشعيرة أجسام زجاجية، وفى آخر الخلايا صفائح سداسية .

زيادة فى تأكيد التشخيص يظهر أيضاً فى هذه الخلايا بلورات إبرية أو خيطية وأجسام أميبية X ويلاحظ أن جميع أجسام X ذات شكل خارجى واحد مع النواة، وتتميز عنها بغياب النوية .

ومن المهم أن نتذكر الآتى :

١ - ليس من الضرورى وجود الصفائح الزجاجية الشكل فى جميع شعيرات السلخ الذى يفحص، ولكن إن وجدت فى إحدى خلايا الشعيرة فلا بد من وجودها فى جميع خلايا هذه الشعيرة، ونادراً جداً ما يرى (فى بعض خلايا الشعيرة) بلورات أو جزيئات متكافئة، التى تظهر على أنها ليست محتويات فيروسية .

٢ - لملاحظة المحتويات الفيروسية يفحص عادة سلخ واحد بكل دقة . وفى حالة النتيجة السلبية يؤخذ سلخ آخر، ومن نبات واحد تؤخذ تسعة سلوخ من ثلاث ورقات علوية

وثلاث وسطية وثلاث في قاعدة الساق، وينصح باستعمال أوراق، تكون مظاهر الإصابة عليها واضحة.

٣ - فى حالة تهتك خلايا الشعيرة فإن المحتويات الفيروسية البلورية سرعان ما تذوب وتختفى.

٤ - عند معاملة السلخ بحامض هيدروكلوريك واحد على مائة عيارى، فإن المحتويات البلورية ترسب على هيئة بلورات إبرية.

٥ - المحتويات الفيروسية تثبت جيداً بواسطة حمض بكريك، وفى هذه الحالة تأخذ اللون الأصفر الفاتح.

أما الأجسام الأميمية فيجب صبغها حتى يمكن رؤيتها بوضوح، وتستخدم لذلك طرق عدة، منها الطريقة الآتية:

١ - عمل سلخ من بشرة ورقة مصابة.

ب - يثبت السلخ فى محلول مكون من ٠,٢٥٪ ثيوسلفات الصوديوم فى ٥٠٪ كحول لمدة ١٠ دقائق.

جـ - ينقل السلخ إلى كحول ٥٠٪ لمدة ١٠ دقائق ثم كحول ٧٠٪ لمدة ٥ دقائق، ثم كحول ٩٥٪ لمدة خمس دقائق.

د - يوضع السلخ فى طبق بترى به ماء لمدة ٣٥ دقيقة، ثم ينقل على شريحة زجاجية ويجفف من الماء.

هـ - يغمر السلخ بصيغة الجيمسا لمدة ٧ دقائق، ثم يغسل عدة مرات بالماء لمدة ٣٠ دقيقة.

و - يوضع السلخ على شريحة ويجفف، ثم تضاف إليه عدة نقط من كحول إيثايل نقى لعدة ثوان، حيث سيتغير اللون من البنفسجى إلى اللون الأزرق، وعندها يجب إضافة بعض نقط من زيت القرنفل على السلخ بعد التخلص من الكحول.

ز - يجدد زيت القرنفل عدة مرات إلى أن يقف تلونه باللون الأزرق، ثم يجفف السلخ من زيت القرنفل ويغمر بالزيتول لمدة ١٠ دقائق، يجفف بعدها الزيتول ويضاف كندا بلسم ويغطى بغطاء شريحة.

جدول (٦-١) : الفيروسات المنتجة للمحتريات الداخلية، وأنواعها، وأشكالها، وأماكن تواجدها في خلايا العائل.

شكلها	مكان تواجدها	نوع الأجسام الداخلية	اسم الفيروس
<ul style="list-style-type: none"> - سداسية - غسيرة منتظمة الشكل ومحبة وبها لبراحات 	الستوبلازم	<ul style="list-style-type: none"> - بلورات - أجسام أمورية (x-bodies) 	١ - السلالة العادية من فيروس موزايك الدخان (Common - TMV Strain)
<ul style="list-style-type: none"> - سداسية - غسيرة منتظمة الشكل ومحبة 	الستوبلازم	<ul style="list-style-type: none"> - بلورات - باراكريستال. - أجسام أمورية (x-bodies) 	٢ - سلالة الاكبريا للفيروس موزايك الدخان (Aucuba - TMV Strain) <i>Sallisia bicolor</i>
	الغراء الستوبلازم	<ul style="list-style-type: none"> - بلورات - أجسام بركمية (Pinewheel) أو أسطوانية (Cylindrical) 	٣ - فيروس إتش الدخان (TEV)

يتبع:

شكلها	مكان تواجدها	نوع الأجسام الداخلية	اسم الفيروس
	السيترولازم في النواة	- أجسام بركية أو سطوانية - أجسام مساعدة (Salivaria bodies)	٤ - فيروس موزايك البطيخ (WMV)
- الياف	السيترولازم	- بلورات	٥ - فيروس البطيخ الحلقى في الدخان (TRSV)
	النواة	- بلورات	٦ - فيروس الموزايك الأصفر في البسلة (PYMV)
- ذات بناء حش به فسراخ أو أكبر	السيترولازم في أنسجة إبطرات	- أجسام X (x- bodies) - بلورات	٧ - فيروس تقزم الأرز (RDV)
<i>Nephotetix cinetepes</i>			
- ذات بناء حش به فسراخ أو أكبر	السيترولازم	- أجسام X (x- bodies)	٨ - فيروس موزايك القبوليبه (TuMV)

يتبع:

شكلها	مكان تواجدها	نوع الأجسام الداخلية	اسم الفيروس
- ذات بناء هش به فراغ أو أكثر	السيترولازم	- أجسام X - (x- bodies)	٩ - فيروس اللون البرونزي في الطماطم (TBV)
- معاصرة دون تفريق أو فراغات	السيترولازم	- أجسام X - (x- bodies)	١٠ - فيروس تجعد البنجر السكر (SBCTV) ١١ - فيروس موزايك البصل (OMV)
- إبرية طويلة متراصة في الشرفان - القمع - الدرة - الشعير.	السيترولازم	بلمرات	١٢ - فيروس التخطيط الموزايكي في القمح (WSMV)
- معزلة في نبات <i>Agropyrum tenerum</i>	السيترولازم	بلمرات	
- مفرقة في حشرة <i>Siriatella Liburnia</i>	في أنسجة الحشرات	أمورية	

شكلها	مكان تواجدها	نوع الأجسام الداخلية	اسم الفيروس
- أميبة الشكل	الستوبلازم الستوبلازم	أمرونية بلورات أو شبه بلوري	١٣ - فيروس X البطاطس (PVX)
	الوراء	بلورات	١٤ - فيروس الوزانك الأصفر في الفاصوليا (BYMV)
- أجسام مسطحة شبيهة المحلاة	الستوبلازم الستوبلازم الستوبلازم الستوبلازم	Laminated bodies أو (PV) أجسام بريةية اسطوانية أجسام بريةية أجسام بريةية	١٥ - فيروس Y البطاطس (PVY) ١٦ - فيروس الراي جونس موزايك (RMV) ١٧ - فيروس موزايك الأجرنيسون (AgMV)
- قد تنوي حجم الوراء	الستوبلازم	أمرونية	١٨ - فيروس موزايك البوم (BoMV) ١٩ - فيروس تنقيع الفول (BBMV) ٢٠ - فيروس الموزايك للون في اللبنة (CoCMV) ٢١ - فيروس تنقيع الفاصوليا (BSMV)

تبيح:

شكلها	مكان تواجدها	نوع الأجسام الداخلية	اسم الفيروس
- قد تفوق حجم النواة	السيترولازم	- أمورية	٢٢ - فيروس اصفرار البنجر (BYV)
			٢٣ - فيروس تشقق ثمرن القاصونيا (BPMV)
			٢٤ - فيروس التيكروزيسيس المنقط في القرنفل (CaNV)
- دائرية الخراف	السيترولازم	- بلورية	٢٥ - فيروس موزايك الربيعان (RYMV)
			٢٦ - فيروس Sun hep (SHMV)
- شبه سداسية (صفيحة رقيقة).	السيترولازم	- بلورية	٢٧ - فيروس التشقق الأخضر في الخيار (CGMV)
- بجوار النواة.	السيترولازم	- أمورية	٢٨ - فيروس التفاف قمة البنجر (بجر السكر) (SBCTV)
- عديدة الأوجه.	السيترولازم	- أمورية	٢٩ - فيروس الدبول في القول (BBWV)
		- وبلورات	٣٠ - فيروس موزايك الباذنجان البرازيلي (BEMV)

يتبع:

شكلها	مكان تواجدها	نوع الأجسام الداعية	اسم الفيروس
- أبرة داخل أنفية متراكمة من الشبكة الإندوبلازمية.	السيتوبلازم	- بلورية	٣١ - فيروس موزايك الفج النقيض بالبرية (SBWMV)
			٣٢ - فيروس موزايك البسلة (PeMV) ٣٣ - فيروس البروق اللوحية في الرعي (RGFV) ٣٤ - فيروس التفاف الأوراق في الكبر (CLRV) ٣٥ - فيروس موزايك الأريس (AMV) ٣٦ - فيروس القبط الحلقية في الرعي (RRSV)
- ميتاكوندريا مستحورة مجمعة.	السيتوبلازم	- أجسام داعية (مكونات نباتية مستحورة)	٣٧ - فيروس التفج في الدخان (TMV)
- كلوروبلاستات مستحورة مجمعة.			٣٨ - فيروس موزايك اللبنت الأصفر (TuYMV)

ينسج :

شكلها	مكان تواجدها	نوع الأجسام الداخلية	اسم الفيروس
	الستوبلازم	- مناطق نورية كاذبة Pesudonucleolar regions	٢٩ - فيروس شتاقية العروق في الببتونيا (PeVCV)
	الستوبلازم	- أجسام داخلية مكونة من جزيئات فيروسية	٤٠ - فيروس (TRV) ٤١ - فيروس الدبول للنقط في الطماطم (TSWV)
- مستديرة أو مستطيلة بها جزيئات فيروسية	الستوبلازم		٤٢ - فيروس موزايك القرنبيط (CaMV) ٤٣ - فيروس موزايك الداليا (DMV) ٤٤ - فيروس إتش الحلقى في القرنفل (CaRV) ٤٥ - فيروس التفوم الأصفر في اللث (TuYSV) ٤٦ - فيروس تفوم الزرق في الشليك (SISV) ٤٧ - فيروس موزايك الالابليس (MaMV)
- زها فيروسات .	البزاة	- تضخم البزاة	٤٨ - فيروس الليكروزيهس الأصفر في الحس (LYNV)

يتمتع :

شكلها	مكان تواجدها	نوع الاجسام الداخلية	اسم الفيورس
			٤٩ - فيورس القزم الاصفر في البطاطس (PYDV)
	السيبولازم	- اجسام أمورية	٥٠ - فيورس التخطيط اليرزايكي الاصفر في الشمع (BYSMV)
			٥١ - فيورس القزم الاصفر في البنجر (SBYSV)
		- اجسام داخلية مشابهة لمرض لحمي في قصبية السكر	٥٢ - فيورس التدريون المجرى (WTV)
- اجسام يوزانية فيروسية.	السيبولازم		٥٣ - فيورس قزم الارز (RDV)
			٥٤ - فيورس قزم الدرة (MDV)
- قد تكون ابرية.	السيبولازم		٥٥ - فيورس القزم والتخطيط الاسود في الارز (RDSBV)
		- اجسام دقيقة حبيبية	٥٦ - فيورس القزم في الخرونان (OSV)
			٥٧ - فيورس القزم الحشن في الدرة (MRDV)
			٥٨ - فيورس الزائد في الدريا (CoEV)
			٥٩ - فيورس قزم البلاجر (PaSV)
- حزم من (FEO) وحزم من الاجشية في اللحماء.	السيبولازم	Bundies	٦٠ - فيورس التخطيط في الدرة (MSV)

عند فحص السلخ سنجد أن الاجسام الاميبية وتأخذ لوناً بنفسجياً أما باقى أجزاء الخلية فتأخذ اللون الأزرق أو اللون الأزرق المخضر.

ب - التغيرات السيتولوجية والتشريحية الداخلية:

Cytological & Anatomical changes

كما يحدث فى النباتات المصابة بالفيروسات نوع آخر من التغيرات الداخلية أكثر توافقاً مع المظاهر الخارجية. وعموماً فإن الفيروسات التى تسبب، مظاهر إصابة خارجية متشابهة تسبب أيضاً تغيرات داخلية متشابهة فى الخلايا.

وأوضح تغير يكون فى جهاز البلاستيدات؛ فمثلاً فى حالة أمراض الموزايك كما فى حالة أمراض الاصفرار تقل كمية الكلوروفيل فى البلاستيدات، ويختزل حجم البلاستيدات فى الخلايا المصابة علاوة على أن أجزاء منها تتكسر، وتكون البلاستيدات الخضراء أكثر حبيبية وأقل فى لونها، وعادة ما يكون شكلها غير منتظم.

وفى نواة الخلايا المصابة يحدث تغير، ففى خلايا النباتات المصابة بالموزايك، وفى بداية الإصابة يقل حجم النواة بوضوح، وفى الوقت نفسه يقل امتصاص النواة للأشعة فوق البنفسجية، وهذا يدل على نقص كمية أحماض النواة فيها. وفى حالة إصابة بنجر السكر بفيروس تجعد القمة وجد أنه فى بداية الإصابة تتأثر النواة فى نسيج الكمبيوم فيزداد حجمها ويصبح شكلها غير منتظم، وأخيراً تتكسر إلى عدد ٥ - ٧ نويات فى الخلايا البرانشيمية، بينما هى فى العادة ١-٢ نواة.

ويحصل خلل فى التبادل الغذائى داخل النباتات المصابة ببعض الفيروسات، يكون من نتيجته تجمع غير عادى لبعض مواد التمثيل فى الخلايا، فمثلاً يلاحظ فى حالة الإصابة بفيروسات الاصفرار تجمع ملحوظ للنشا فى خلايا المناطق الصفراء.

كذلك فى حالة مرض التفاف أوراق البطاطس حيث البلاستيدات الخضراء تمتلئ بالنشا وربما تنفجر.

ويحدث فى حالة كثير من الأمراض الفيروسية تجمع لصبغة الأنثوسيانين فى فراغات

الخلايا؛ مما يؤدي إلى تغير في لون السوق والأوراق.

وتسبب بعض الفيروسات تغيراً في التركيب التشريحي لأجزاء مختلفة من النبات المصاب، ففي مرض التفاف أوراق البطاطس ومرض *Scorch* لقصب السكر ومرض تجعد قمة بنجر السكر وتجعد الشليك وإصفرار الأستر يصحب التجميع الزائد للكربوهيدرات شذوذ في أنسجة اللحاء، ففي البطاطس يظهر بالانابيب الغربالية والخلايا المرافقة أجزاء ميتة (نيكروزيس). كما تسبب فيروسات التفاف الأوراق نيكروزيس في درنات بعض أصناف البطاطس، وكذلك يوجد نيكروزيس في اللحاء، ويمتد إلى البريسكيل في نباتات بنجر السكر المصابة بتجعد القمة. ويظهر على البطاطس المصاب بنيكروزيس القمة موت لأجزاء من اللحاء في السوق والأوراق والدرنات، فيبدأ النيكروزيس في اللحاء، وبعد أن يعم اللحاء ينتشر منه إلى الأنسجة الأخرى. يبدأ النيكروزيس بظهور فراغات في الخلايا، تتلى بمواد صمغية ثم تغلظ جدر الخلايا لترسيب اللجنين أو السوبرين بينما تختفى محتويات الخلية أو تتحول إلى مواد قائمة غنية في البكتين، ودائماً ما يتكون نسيج فلينى حول المناطق النيكروزيسية خاصة في الدرنات، وهو طبقات من الخلايا الفلينية التي أحياناً ماتتصل ببعضها مكونة حلقة حول الجزء الميت.

ويصحب الإصابة بالفيروسات تغير في حجم وشكل ونمو الخلايا، ففي حالة الإصابة بالموزايك يتغير شكل خلايا الورقة في المنطقة الصفراء، وتكون هذه المناطق أقل سمكاً من مناطق الورقة الأخرى نتيجة لاختزال في أطوال خلايا النسيج العمادي *Palisade cells* وصغر المسافات البينية. كما لوحظ اختزال شديد في حجم الخلية في أنسجة نباتات الشعير المصابة بـ *Striate mosaic*، وفي النموات الخيطية لدرنات البطاطس المصابة بمرض ستلبر.

تأخذ بعض التغيرات شكل تكوين نموات داخلية جديدة، فمثلاً مرض فيجي قصب السكر تظهر في اللحاء نموات كروية *galls* نتيجة لنمو شاذ في خلايا اللحاء وبارنشمية اللحاء.

أولاً: المظاهر الخارجية للإصابة بالفيروس: External symptoms

تعني كلمة مظاهر الإصابة Symptoms توضيح التغيرات المرئية الموجودة على النبات نتيجة الإصابة بسبب المرض، ويعبر عنها باصطلاحات قد تبين النتيجة النهائية، مثل: الحافة الصفراء والتبقع فى الورقة، أو تبين العمليات التى تغير من مظهر النبات المصاب مثل عملية الاصفرار والتبقع (Yellowing or edge yellowing), (mottle or mottling).

ويفضل استعمال الاصطلاح الأول؛ حيث إن الاصطلاح الثانى يستعمل غالباً للدلالة على المرض وليس على مظهر الإصابة، وحيث إنه لا توجد اصطلاحات تعبر عن العمليات التى تسبب المظاهر غير العادية مثل الموزايك لذلك فإن كلا الاتجاهين قد يستعمل فى التسمية، وقد تكون هناك بعض الاصطلاحات، التى تبين العملية والنتيجة معاً مثل التشوهات malformation ومن أهم هذه المظاهر ما يلى:

١ - صغر الحجم: Dwarfing

تؤدى الإصابة بمعظم الفيروسات إلى نقص فى حجم النبات المصاب عن النبات السليم، وعندما يكون هذا النقص واضحاً يطلق عليه اسم التقزم Dwarfing or stunting ويكون التأثير واضحاً إذا ما أصيب النبات فى سن مبكر؛ إذ يكون ظاهراً على أطراف الأفرع أو فى قمة النبات، كما هو الحال فى مرض تقزم البسلة . pea stunt dis .

ودائماً ما يؤدى النقص فى حجم النبات إلى إنتاج ثمار صغيرة الحجم، وقد يصل حجم الثمار فى بعض الحالات نصف الحجم الطبيعى .

وفى بعض الأحوال يحدث صغر فى حجم النبات دون ظهور مظاهر أخرى، غير أن هذا ينعكس على حجم الثمار أو قلة فى المحصول . وحيث إن هناك عوامل أخرى تتدخل فى المحصول كالتغذية . . لذلك فمن الصعب القول بأنها ناتجة عن إصابة فيروسية .

٢ - التغيرات فى اللون: Colour deviations

يعتبر التغير فى اللون مظهراً شائعاً فى النباتات المصابة بالفيروس، ويحدث مثل هذا التغير فى الأوراق والسيقان والأزهار والثمار، وحيث إن الأوراق تشغل الجزء الأكبر من سطح

النبات فإن التغير في لونها يجذب الانتباه ولذلك درس أكثر تفصيلاً.

ويرجع التغير في اللون في الأوراق، وفي أغلب الأحوال إلى عدم الانتظام في إنتاج الكلوروفيل مثل التأخر أو النقص في إنتاجه، وهذا قد يفسر لماذا تختفى مظاهر الموزايك بعد مرور قليل من الوقت. وقد يحدث تحطيم للكلوروبلاستيدات ينتج عنه انخفاض محتوى الكلوروفيل، ويسبب هذا لوناً اخضر أو أصفر، وتسمى هذه الظاهرة كلوروسيس (Cr. chloros light green)، وقد تغيب كل الصبغات، وهذا في أشد حالات الكلوروسيس، وتسمى هذه الظاهرة الإبيضاض Blanching or Bleaching، وعادة ما تؤدي بعض التغيرات التشريحية مثل الشكل الكروي لخلايا البلاستيدات وكذلك تأخر تكوين المسافات بين الخلايا في الميزوفيل إلى التأثير على اللون الأخضر في الورقة.

وعند غياب الكلوروفيل، يظهر تأثير الكاروتين والكاروتينوفيل في النسيج الملون مسبباً اصفرار هذا النسيج، ويسمى هذا المظهر بالاصفرار yellowing، ويكون هذا واضحاً في النباتات التي تحتوي طبيعياً على نسبة عالية من هذه الصبغات.

ويسبب التغير بالزيادة في صبغة الأنثوسيانين اللون الأحمر redding أو اللون القرمزي Purpling لأجزاء النبات المصاب كالأوراق والأزهار وحيث إن لصبغة الأنثوسيانين علاقة بالسكريات فإن الاضطراب في ميثابوليزم السكريات قد يكون السبب، وهذا الاقتراح لأن التلون الأحمر أو القرمزي دائماً ما يصبح أمراضاً مثل فيروس التفاف أوراق البطاطس وفيروس اصفرار وتقزم الشعير في الشوفان، كما أن هذه الأمراض تسببها فيروسات غالباً ما توجد في اللحاء ويميزها، أو يصحبها اضطرابات في تمثيل الكربوهيدرات.

ولوحظ أيضاً إنتاج مواد قائمة اللون، مواد شبيهة بالميلانينات melaning مسببة اللون البني Browning في الأنسجة الميتة (نيكروميس) أو لون أسود Blacking أما إذا كان النيكروزيس سطحياً مثل وجوده في الأبيدرمس.. فإن اللون ربما يكون برونزياً Bronzing. ولا يلاحظ إفراز الميلانينات إذا ما تسبب موت النسيج عن الجفاف السريع، وفي هذه الحالة ربما يأخذ النسيج الميت الجاف لوناً رمادياً فضياً silvery gray أو مبيضاً. وستناول مظاهر تغير اللون في الأجزاء المختلفة من النبات المصاب كالاتي:

١ - تغير اللون في الأوراق : Colour deviations

يعطى اصطلاح موزايك Mosaic لكثير من مظاهر إصابة الورقة، ويعنى هذا الاصطلاح وجود مناطق خضراء أو صفراء قائمة أو فاتحة ذات شكل غير منتظم، ولها حدود منتظمة واضحة Sharply، كما هو الحال في البلاط الموزايكى، والتي منها اشتق الاسم.

وأول من أطلق هذا الاصطلاح هو ماير Mayer عام ١٨٨٦، أطلقه على عَرَض مرض الدخان، ومن هذا التاريخ عرفت مظاهر الموزايك، واستعمل هذا الاصطلاح ولدة طويلة مرادفاً للأمراض الفيروسية، كما استعمل أيضاً فى ذلك الوقت بدلاً من اصطلاح -variega- التوالثل الواضح لهذا هو موزايك أبو خنجر، والذي يسمى حالياً Abutilon infectious variegation، وتطلق تسميات عديدة على أشكال مختلفة من الموزايك مثل :

اكيوباموزايك Aucuba mosaic نسبة إلى تلون أوراق النباتات *Aucuba bapwis var. variegatum*، وكذلك اسم Calico m. نسبة إلى التلون على أوراق نبات Calico أى لون اصفر زاه Brilliant yellow، أو أحياناً كثيرة ما يكون اللون مبيضاً فى بعض أجزاء الورقة، كما هو الحال فى فيروس كاليكو البطاطس Potato calico وفيروس كاليكو الخوخ Peach calico v.، وربما يوصف الموزايك على أنه شديد أو خفيف (معتدل) Severe or mild أو موزايك مخضر أو مصفر yellow or green mosaic، وقد تأخذ ظاهرة الموزايك شكلاً خاصاً كما هو الحال فى نباتات الفلقة الواحدة ذات العروق المتوازية، وتكون فيها المناطق الملونة طولية، ويسمى فى هذه الحالة التخطيط Streaking or stripping، وقد يكون الموزايك منحصراً فى مناطق محدودة مثل موزايك العروق ويسمى Vein mosaic؛ حيث تظهر الأجزاء خفيفة اللون متجمعة بطول العروق الرئيسية، كما هو الحال فى فيروس موزايك العروق فى البرسيم الأحمر red clover vein mosaic، وفى فيروس موزايك التفاح apple mosaic. وربما يطلق على هذه الظاهرة كلوروسيس العروق V. chlorosis أو اصفرار العروق Vein yellowing، ولكن اصطلاح الموزايك يوضح أن المناطق الباهتة غير منتظمة وأن التلون غير الطبيعى موزع بغير نظام حول عروق الورقة، ويستعمل اصطلاح تمزم العروق vein banding فى حالة وجود مناطق قائمة حول العروق، كما هو فى حالة فيروس تمزم

العروق الراسبرى rasberry vein banding وفيروس موزايك الورد rose mosaic v.

وإذ وجد الموزايك بين العروق الكبيرة يستعمل اصطلاح موزايك بين العروق -Intervei-
nal mosaic مثل مظاهر الإصابة ببعض سلالات فيروس X البطاطس PVX، وقد يعطى
الموزايك أسماء مختلفة طبقاً لحجمه وشكله مثل: , Speckling , Dotting , Flecking ,
. Spotting.

ويطلق اسم التبقع الحلقي Ring spot، عندما يأخذ اللون شكلاً حلقياً، ويميز هذا
المظهر مجموعة مهمة من الفيروسات، تظهره على عوائل خاصة، ولهذا تسمى مجموعة
فيروسات البقع الحلقية Ring spot viruses وأحياناً تأخذ المناطق الملونة شكل النجوم
فتسمى التبقع النجمى Asteroid spotting. وإذا كانت المناطق الملونة ذات حواف باهتة
غير محدودة فتسمى هذه الظاهرة بالتبقع mottling، وهناك خلاف فى المراجع بين
استعمال كلمة الموزايك وكلمة التبقع، ولو أنهما يستعملان كمترادفين، فإنه وفى بعض
الاحوال يكون تغير اللون الذى يطلق عليه variegation نتيجة لتواجد نظام من اللون
الاخضر المصفر الواضح، فيكون إما من خط أو خطوط متجمعة فى حزم، ويسمى هذا Line
pattern أو ربما يأخذ شكل ورقة البلوط فيطلق عليه Oak Leaf pattern، وقد يأخذ شكل
حلقات rings، ومن امثلة النظام المخطط إصابة الخوخ والكرهز بفيروسات النظام المخطط Line
pattern viruses، وقد يظهر أحياناً لون رصاصى مفضض Silver gray، كما هو الحال فى
مرض التخطيط فى النرجس Stripe disease of narcissus، وقد يتغير لون الورقة من لونها
الطبيعى إلى اللون الاخضر القاتم كما فى مرض الخوخ المزيف Phony Dis، وقد توجد صفة
الاحمرار redding أو اللون القرمزى Purpling، وتتشابه هذه المظاهر إلى حد كبير مع
المظاهر التى ترى نتيجة لنقص المعادن mineral defecincies. يمثل اللون البنفسجى مرض
ذبول قمة البطاطس Potato purple top wilt Dis، وكذلك يسبب فيروس التقزم الاصفر
للشعير Barley yellow dwarf تلوناً احمر برتقالياً واضحاً على الشوفان، ويسمى Oat red
. leaf.

إن إنتاج مواد غامقة سوداء تشبه الميلانين melanins فى الانسجة الميتة مؤدية إلى اللون

البنى Browning أو الاسود Blacking يعتبر امراً طبيعياً فى أمراض الفيروس خاصة النيكروزيس. أما اللون البرونزى Bronzing فنادر الوجود، ويتسبب عن النيكروزيس وتزاحم فى خلايا البشرة فوق الميزوفيل الأخضر مع الصلابة turgid، وهذا يوجد فى حالة الإصابة بفيروس الذبول المنقط فى الطماطم V. tomato spotted wilt، ويظهر على هيئة حلقات كنسيج شبكى حول العروق الصغيرة، وقد يغطى مساحة كبيرة من سطح الورقة، وقد يؤدى اللون القرمزى إلى نيكروزيس سطحي etching غير عميق.

ب - تغير اللون فى السيقان : Colour deviation in stems

تعكس السيقان تغيرات غير طبيعية فى المستوى الكلوروفيل كالتى تحدث فى الاوراق؛ حيث إن السيقان الغضة herbaceous بها محتويات كلوروفيل كالتى بالاوراق. ويرجع معظم التغير فى اللون فى السيقان إلى وجود نيكروزيس خاصة فى الاوعية الناقلة. ولذلك فإن اللون البنى أو الاسود دائماً ما يوجدان على هيئة خطوط streaks، كما فى كثير من امراض التخبط فى البسلة. وربما تصبح الساق سوداء اللون كلية، كما فى حالة اسوداد جذر الفاصوليا Black root of bean المتسبب عن فيروس موزايك البسلة.

ج - تغير اللون فى الأزهار : Colour deviation in flowers

عرفت ظاهرة تغير اللون فى الازهار من قديم الزمان، فوصف انفصال الالوان فى زهرة التبوليب Breaking of the flower colour بأول مرة عام ١٥٧٦م بواسطة كلوسوس Clusios فى هولندا. وترجع هذه الظاهرة إلى غياب محلى أو تركيز وتجمع محلى للصبغات فى الطبقات السطحية للبتلات؛ إذ إنه فى حالة غياب الصبغات، يظهر العضو باللون الابيض أو المصفر، ويسمى فى هذه الحالة انكساراً خفيفاً Light breaking، أما فى حالة تركيز وتجميع الصبغات فيسمى انكساراً قاتماً dark breaking؛ حيث تظهر خطوط صغيرة أو طويلة قاتمة. وقد يوجد المظهران القاتم والفاتح مع بعضهما.

ويوجد انكسار اللون فى زهرة التبوليب المصابة بفيروس التبوليب رقم ١، كما أن الانكسار القاتم يمكن أن تسببه الإصابة بفيروس القرقة V. rattle فى التبوليب، وربما ترجع اشكال الانكسار الخفيف إلى عوامل وراثية.

ويتسبب انكسار اللون في زهرة الثوليب عندما تصاب أيضاً بفيروس اصفرار الفاصوليا Bean yellow V. أو فيروس موزايك الخيار CMV وكذلك يلاحظ في أزهار المنثور *Mathiola sp.* عند إصابتها بفيروس النقط السوداء في الكرنب.

ويوجد بجانب مظهر انكسار اللون في الأزهار مظهر تغير اللون؛ إذ ربما يكون لون الأزهار ضعيفاً أو ثقيلًا أو يتغير كلية. فمثلاً عند إصابة زهرة الكريز انثيمم بسلالة من فيروس موزايك الخيار CMV يتحول لونها الأحمر أو البرونزي إلى البني أو الأصفر. وربما تتحول أزهار البنفسج الحمراء أو الحمراء الخفيفة أو القرمزية إلى اللون الأبيض المنقط أو أبيض كامل.

وهناك تغير آخر في اللون وفيه بدلاً من ظهور اللون الأخضر العادي على البتلات، فإنها تكون أكثر أو أقل خضرة، وهذه الحالة تعتبر أول خطوة من مجموعة من المتغيرات يطلق عليها anthalyses.

د - تغير اللون في الثمار والبذور: Colour deviations in fruits and seeds

ربما يظهر تغير في لون الثمار والبذور، ويرجع هذا إلى اضطراب في الصبغات ولهذا المظهر أهمية اقتصادية كبيرة (وقد يجذب التغير في ثمار الخيار صنف ghesking للتخيل (الانظار) وقد يوجد الموزايك مع تشوه في الثمار. وربما تسبب بعض الفيروسات مثل فيروس موزايك الدخان، وفيروس ذبول الطماطم المنقط تغير لون ثمار الطماطم، وكذلك فإن البقع البنية على بذور الفول الصويا تتسبب عن الإصابة بفيروس موزايك فول الصويا.

٣ - الذبول والجفاف: Wilting and desiccation

في أمراض النبات عامة دائماً ما تظهر النباتات نقصاً في محتوى الرطوبة، وهذا يؤدي إلى فقد في حيوية النسيج وذبوله Wilting، وقد يكون فقداً كاملاً للرطوبة فيجف النسيج أو يحدث له تهالك، Withering، وقد يكون هذا مصحوباً بانكماش وتساقط النسيج المصاب Withering and desiccation، ولا يكون هناك فرق في بعض الإصابات بين الجفاف والتهالك، وقد يعود النسيج المصاب للتهالك Withering إلى طبقة، وربما يؤدي الذبول إلى

حالة تهالك Withering لا يعود بعدها النبات إلى طبيعته Irreversible ويعتبر مظهر التهالك Withering مظهراً عادياً للإصابة بالفيروس، ففي البسلة المصابة بفيروس اللون البنى المبكر توجد هذه الحالة في الوريقات كنتيجة لوجود نيكروزيس العروق والأعناق petioles، أما مظهر الجفاف desiccation فرمياً يظهر على أجزاء معينة من الورقة، كما في حالة الفاصوليا المصابة بفيروس نيكروزيس الدخان؛ إذ ربما تظهر الأوراق نيكروزيس للعروق الرفيعة في مناطق مخصصة من النصل ينتج عنها جفاف desiccation للانسجة بين هذه العروق، وكذلك يلاحظ الجفاف في النقط المحلية Local lesions، كما يمثل مرض الوخز ecching شكلاً خاصاً للجفاف.

ويعرف القليل عن سبب قلة الرطوبة في النباتات المريضة، وربما ترجع قلة وصول المياه للنسيج إلى وجود نيكروزيس في الأجزاء الوعائية أو تركيز مواد صغية في الأوعية أو في الخلايا الخشبية الأخرى أو لوجود النموات الزائدة Tyloses في الخشب، وقد وجد هذا الاحتمال الأخير في نباتات العنب المصابة بفيروس Pierce's، إذ يسبب هذا المرض ذبولاً مفاجئاً للنباتات الصغيرة. ويبدأ الذبول من قمم الأفرع وينتشر إلى أسفل.

٤ - النيكروزيس (موت الأنسجة) : Necrosis

يسمى موت الخلايا أو موت الأنسجة نيكروزيس (Gr. nekrom = to make dead)، وهذا مظهر عام بالنسبة للأمراض الفيروسية، وهو يظهر بسرعة ويكون هناك خط واضح بين الجزء الميت والجزء الحى من النسيج، ويوضح النيكروزيس لوناً قائماً من المواد الشبيهة بالميلانين. وحيث إن مكان النيكروزيس وشكله مميزان، فإن هذا المظهر له قيمة تشخيصية وربما يؤثر النيكروزيس على الخلايا السطحية Superficial أو ربما يوجد في طبقات الأنسجة الداخلية وربما يشمل عديداً من الأنسجة أو يلتصق بنوع واحد. ويبدأ النيكروزيس غالباً من مكان دخول الفيروس، ثم يتعدى إلى الخلايا المجاورة مسبباً نقطاً محلية نيكروزيية.

وغير معروف ميكانيكية هذا النيكروزيس الشديد أى ميكانيكية مثل هذه الحساسية العالية Hypersensitivity التى غالباً ما تؤدي إلى تحديد الإصابة وتمنع انتشارها داخل النبات.

هذه الحساسية يمكن أن تكون ذات أهمية عملية في إيجاد أصناف مقاومة في الحقل،

مثل الاصناف المقاومة لموزايك الفاصوليا العادى .

وفى ظروف الرطوبة العالية فإن النيكروزيس يتبعه العفن Rotting نتيجة لنمو الفطريات أو البكتريا، أما فى ظروف الجو الجاف فإن النسيج الميت ربما يجف فلا يصيبه العفن .

أ - نيكروزيس فى الأوراق : Necrosis in leaves

الإصابة النيكروزيسية إما محلية Necrotic spotting or necrotic speckling كما هى الحال فى نباتات *N. glutinosa* أو نباتات الفاصوليا عند إصابتها بفيروس موزايك الدخان TMV، وتكون فى بعض الاحوال الإصابة النيكروزيسية راجعة إلى تأثير عام Systemic، وهذا سببه حركة ومرور جزئيات فيروس معدية إلى مناطق مختلفة . وفى هذه الاحوال فإن النيكروزيس قد يكون سطحياً ويسمى etching، وفى حالة اللون البرونزى فى الطماطم يكون النيكروزيس فى خلايا الطبقة السطحية epidermis، وعند اتساع عدد كبير من النقط الميتة فإنها تلتحم مسببة موت المنطقة، كما أن النقط الميتة ربما تتسع مسببة مظهر التخطيط streaking كما فى حالة البسلة، وربما النيكروزيس ويشمل العروق ويسمى نيكروزيس العروق veinal necrosis .

ب - نيكروزيس السيقان : Stem necrosis

بعد أن يصل النيكروزيس إلى العروق فإنه يستمر خلال الاعناق Petioles إلى الساق وبعد ذلك من الاوعية إلى الاوراق العليا . وغالباً ما يؤدى هذا النيكروزيس إلى خلل فى نسبة الماء، وبالتالي إلى ذبول وسقوط الاوراق، وهذا واضح فى نباتات البسلة المصابة بفيروس اللون البنى المبكر early browning . ومن المظاهر المميزة لنيكروزيس الاوعية هو الجذر الاسود black root الذى يلاحظ فى بعض اصناف الفاصوليا المصابة بفيروس الموزايك العادى للفاصوليا، وفى هذه الاصناف يسكن الفيروس فى أماكن محدودة مسبباً نيكروزيس، وإذا ارتفعت الحرارة عن ٢٠م فإن الفيروس يصبح عاماً، ويسبب نيكروزيس الاوعية الناقلة فى كل اجزاء النبات مثل الجذور والسوق والقرون . ويحدث النيكروزيس، نفسه إصابة فى الاوعية، إذا أدخل الفيروس إلى الاوعية بواسطة التطعيم .

وطبيعياً أن النيكروزيس العام يؤدي إلى موت الأفرع الصغيرة أو القمم النامية للسوق وهذا يحدث في الفاصوليا عند الإصابة بسلالات خاصة من فيروس موزايك الفاصوليا الأصفر، أو في بعض أصناف البطاطس بعد الإصابة بفيروس A البطاطس. وقد يسمى نيكروزيس القمة هذا *acro necrosis*.

وتوجد عدة اعتبارات خاصة بأصل ومكان النيكروزيس في تشريح السيقان، ففي حالة الفيروسات التي تحدد وجودها في اللحاء، فإن النيكروزيس عادة ما يكون في اللحاء فقط والمثل الواضح لهذا هو نيكروزيس اللحاء، *Phloem necrosis* في نباتات البطاطس المصابة بفيروس التفاف الأوراق، وهو يشمل الخلايا الغربالية والخلايا المرافقة، ويمكن ملاحظة هذا النيكروزيس بالميكروسكوب فقط. في هذا المرض (نيكروزيس لحاء البطاطس) فإن النيكروزيس (في بعض الحالات) يمتد إلى الدرنه، ويسبب نيكروزيس شبكياً مثل *net necrosis* ومثالا آخران فيوجد نيكروزيس اللحاء في بنجر السكر المصاب بفيروس تجمعد القمة *Curly top*، والتجليات المصابة بفيروس التقزم الأصفر للشعير *Barley yellow dwarf* ونيكروزيس اللحاء أهمية خاصة في بعض الأمراض كمرض التدهور السريع في الموالح *Tristeza*؛ حيث يوجد مباشرة أسفل منطقة التطعيم في النارنج *Sower orange* (أصل النارنج المطعم بطعم من البرتقال المصاب) ويؤدي هذا النيكروزيس إلى حجز *depletion* النشا في الجذور، وبالتالي تعفن هذه الجذور، وبالتبعية فإن الجزء من الشجرة خارج التربة يظهر تدهوراً عن جوع مستمر وذبول وتساقط الأوراق. ويسبب انتقال الفيروس خلال اللحاء وجود أشكال كثيرة من النيكروزيس في اللحاء والحزم الوعائية، بل ويمتد النيكروزيس إلى أنسجة أخرى ففي مرض الجذر الأسود في الفاصوليا السابق ذكره، فإن النيكروزيس لا يصيب فقط اللحاء، ولكن يصيب الكامبيوم والطبقة الخارجية من الخشب. وفي أمراض التخطيط *Streak diseases* في البطاطس، والمتجمعة تحت اسم *acro necrosis*، يبدأ ظهور النيكروزيس في اللحاء، ثم يمتد إلى الأنسجة المجاورة في جميع الاتجاهات؛ خاصة نحو الخشب، ودائماً ما ترى بالعين أشكال النيكروزيس الداخلي كتخطيط لونه قاتم على السيقان وعنق الورقة والعروق الأساسية.

كذلك فإن أصل نيكروزيس الساق يكون فى القشرة (للخلايا البارانشيمية Parenchyma) فى السيقان والورقة وفى العروق الاساسية للفصوليا French bean المصابة بفيروس موزايك البرسيم الابيض White clover M.V. فإن خلايا القشرة فى الكمبيوم الاولى Pericambium (وهو النسيج من اللحاء والقشرة Cortex أو بين الخشب) أو فى مجاميع الخلايا البارانشيمية بين الاوعية Intervascular parenchyma ربما تصاب بالنيكروزيس، ويسبق هذا النيكروزيس أو يصحبه ترسب الصمغ، ويظهر التخطيط من الخارج ذا لون رمادى قاتم.

وفى نباتات البطاطس المصابة بفيروس Y، فإن النيكروزيس يوجد فى Collenchema للأعضاء الهوائية، وفى بعض الاحوال يمتد إلى الأنسجة الأخرى من القشرة Cortex وليس للحزم الوعائية، وربما تصاب الخلايا البارانشيمية بين الحزم فى عنق الاوراق، ويرى التخطيط النيكروزيس من الخارج.

وتظهر قشرة سيقان الدخان المصاب بفيروس القرقعة Rattle لنيكروزيس واضح. وبالإضافة إلى النيكروزيس الداخلى، فإنه يظهر على الساق نيكروزيس سطحى خارجى ملتصق بالقشرة، مثل المناطق النيكروزيسية على الاوراق وأعناقها. فمثلاً يسبب مرض ثقب ساق البطاطس Stem mottle الذى يسببه فيروس القرقعة Rattle فى الدخان نيكروزيس سطحياً يبدأ فى الورقة، ويتقدم إلى القشرة فى العروق والأعناق، ثم السيقان، دون أن يؤثر على الحزم الوعائية.

ويستعمل فى المراجع اصطلاح streak معبراً عن هذه الخطوط النيكروزيسية؛ إذ إن المعنى الحرفى لكلمة التخطيط هى كلمة stripe، ويمكن استعمالها (Stripe = shaped discol-ouration) كما تستعمل (stripe = shaped necrosis) وقد وصف نيكروزيس قلف شجر الدردار elm على أنه فيروس تحت اسم تقرح حلقى elm zonate cancer وفيه تظهر مظاهر الإصابة على القلف على هيئة حلقات متتالية من نسيج ميت وحى فى أنسجة القشرة أو اللحاء، ثم تتسع المساحة المصابة، وربما يمتد النيكروزيس إلى الخشب، كما ربما يسبب النيكروزيس انشقاق القلف.

ودائماً ماتكون السيقان والأفرع متأثرة ويموت الجزء السطحى منها؛ إذ يؤدى

النيكروزيس المحدد في السيقان والأفرع إلى موت القلف حتى الخشب، وهنا يستعمل اصطلاح تقرح canker لهذه الحالة، إلا أن اصطلاح نيكروزيس القلف bark necrosis ربما يكون أوضح.

ولا يعرف تعريف محدد لاصطلاح التقرح canker، وربما يؤدي النيكروزيس المحلي خاصة فيما يسمى تقرحات سنوية Perennial cankers إلى إنتاج درنات من الكالوس tumorous callus حول الجرح، ولهذا فالظاهرة لها عدة أوجه، وربما تسمى tumorous canker.

وفي بعض امراض النباتات فإن التقرحات cankers ربما يطلق عليها انثراكنوز القلف bark anthracnose (Cr. anthrax = cool, nosos = disease)، وعموماً فإن الانثراكنوز هو اسم مرض يتميز بأجزاء تشبه القرحات ulcer.

وربما تظهر درنات البطاطس مجموعة من أشكال النيكروزيس، ففي مرض corky ring spot dis البقع الحلقيية الفلينية المتسبب عن فيروس له علاقة بفيروس تبقع ساق الدخان (tobacco rattle)، فإن السطح الخارجى المقطوع من الدرنه يظهر نظام نيكروزيس يشبه الحلقة أو القوس (ring = linke or arc)، وهذا شكل من أشكال الحلقات النيكروزيسية. وحيث إن مظاهر الإصابة تكون مصحوبة بتكوين بعض الفلين.. فإن هذا يؤدي إلى استعمال اصطلاح الحلقات الفلينية Corky ring spot للمرض.

وفي مظهر الحلقات الفلينية يمكن التمييز بين الإصابة الأولية والإصابة الثانوية حسب وضعها في الدرنه؛ فالإصابة الأولية تبدأ من مركز الدرنه متجهة إلى حوافها، بينما تتركز الإصابة الثانوية حول طرف الدرنه heel-end.

وتظهر درنات أصناف البطاطس خاصة المنزوعة في أمريكا الشمالية نيكروزيس شبكيًا، بعد إصابتها بفيروس التفاف الأوراق، ويظهر على النسيج تحت سطح الدرنه علامات بنية قائمة وأشكال شبكية، والتي تتكون من نيكروزيس الخلايا الغربالية والخلايا المرافقة، وهذا هو نيكروزيس اللحاء، ويسبب عدم انتظام توزيع الحزم الوعائية في الدرنه يظهر السطح

المقطوع علامات تشبه الشبكة. هذا النيكروريس واضح للعين المجردة، كما يظهر تبقع الدرنه tuber blotching أو النيكروريس الشبكي الكاذب pseudo net necrosis الذى غالباً ما يوجد فى الخلايا البارنشيمية للقشرة والنخاع فى الدرنه، متسبباً عن الإصابة بفيروس أو كيوبا البطاطس aucuba، ويرى النيكروريس بسهولة كبقع صدئة بنية قائمة داخل و خارج حلقة الأوعية الناقلة.

وهناك فرق بين نيكروريس الدرنات المتسبب عن فيروس، وبين المتسبب عن طبيعة فسيولوجية؛ إذ إن الثانى يكون أخف مظهراً ولوناً.

جـ - نيكروريس الثمار: Necrosis in fruits

ربما يوجد النيكروريس أيضاً فى الثمار، ودائماً ما تظهر قرون الفاصوليا المصابة بفيروس نيكروريس الدخان وقرون البسلة المصابة بفيروس اللون البنى نظاماً حلقياً نيكرورسى. ومثل آخر لنيكروريس الحلقى هو ما يظهر على ثمار الطماطم المصابة بفيروس الذبول المنقط spotted wilt V. وفى الكمثرى فإن الثمار المصابة بفيروس الحفر الحجرية stony-pit يوجد فيها نيكروريس فى القلب بجانب تركيز وتجميع الحفر الحجرية sclerenchyma.

هـ - تكوين الفلين: Cork formation

يعتبر تكوين الفلين ظاهرة عادية فى النباتات، كما يوجد أيضاً فى حالة النياتات المصابة ودائماً ما يكون ظاهرة ثانوية ناتجة عن الجروح، وعادة ما يوجد تكوين الفلين فى الأمراض الفيروسية، وفى هذه الحالة تتكون خلايا تنقسم مكونة خلايا الفلين. هذا التغير هو تغير تنظيمى. ويتكون الفلين فى طبقات متتالية على الجذور مثلاً أو على المسافات بين الخلايا والمملوءة بالصمغ، أو حول المجاميع الكبيرة من الخلايا الميتة.

وفى مرض القوباء فى الموالح.. فإن وجود الفلين يكون فى طبقات قلف السيقان الخارجية المتمزقة التى تموت، وتكون القشور الجافة، ويسمى هذا المظهر قشور القلف bark scaling باسم سوروسيس psorosis من psora - scab. L.

يوجد أيضاً مظهر لتكوين الفلين على ثمار التفاح المصابة بفيروس Apple rough skin القشرة الخشنة، وتنتج ظاهرة القشر الخشن عن بقع فلينية خشنة على جلد ثمار التفاح. ربما تكون هذه الأجزاء صغيرة ومستديرة، وربما توجد أيضاً في حلقات أو خطوط طولية، وربما تشمل أجزاءً كبيرة من الجلد. وفي بعض الأحوال تشقق هذه المناطق الخشنة، وتظهر الثمار بعض التشوهات، وربما تأخذ التشققات شكل النجمة فتسمى التشقق النجمي star cracking .

٦ - التشوهات : Malformation

في كثير من الأمراض الفيروسية حيث تظهر الخلايا طبيعية، إلا أنه قد تكون الخلايا والأنسجة وحتى الأعضاء في نموها غير طبيعية، وهذا النمو غير الطبيعي يؤدي إلى تشوهات Malformation أو تغيرات deviations في بناء وتكوين أجزاء النبات أو ربما النبات بأكمله. ومجموعة التشوهات مجموعة معاندة، وربما تدخل تحتها التغيرات السيتولوجية غير الطبيعية حيث إن التفرقة بين مجموعة التشوهات ومجاميع الإصابة السابقة غير مقبولة تماماً.

وربما تكون التشوهات أولية أو ثانوية ففي الحالة الأولى (أولية) فإنها تكون المظاهر المرئية التي تتسبب مباشرة من الإصابة، أما التشوهات الثانوية لا تظهر إلى أن يظهر النبات مظاهر معينة مثل النيكروريس، أو البقع الصفراء التي قد تؤدي إلى تشوه العضو المذكور. . فإن هذه ترجع بطريق غير مباشر إلى الإصابة الفيروسية.

١ - التشوهات الأولية : Primary malformations

تعتبر التشوهات الأولية من بين التغيرات الأولى الناتجة عن الإصابة الفيروسية، وترجع إلى العمل غير المنتظم للهرمونات النباتية (الناتجة عن الانتقال والتوزيع غير المنتظم للهرمونات) أو من نقص أو زيادة في المستوى الهرموني. وحيث إن المستوى المطلوب لنمو نموذجي يتغير بتغير الأجزاء النباتية، فإن التغير في مستوى الهرمون ربما يعرقل صفات النمو. ويمكن تقسيم التشوهات التي تظهر نتيجة لهذه الحالة إلى مجموعتين (وذلك طبقاً لما قام به Kister عام ١٩١١، ١٩٢٥).

المجموعة الأولى : تشوهات فى الأنسجة :

Histoid or histological deviations (histoid = tissue like)

وتتسبب عن تنظيم غير عادى لانسجة معينة أو لانسجة داخل أعضاء معينة .

المجموعة الثانية : تشوهات فى الأعضاء :

Organoid or morphological deviations (organoid= organ - like)

وفىها تكون الانسجة والاعضاء عادية، ولكن تنظيم أو ترتيب الاعضاء أى العلاقة بين الاعضاء غير طبيعية .

وتعتبر صفات Organoid, histoid من أن النواتج غير العادية تكون إهليلجياً بالنسبة للانسجة tissue like أو بالنسبة للعضو Organ like ، ويجب أن يوضع فى الذهن أنه لا يوجد خط فاصل واضح بين تغيرات الانسجة histoid وتغيرات العضو Organoid ، ويستعمل فى مثل هذه الحالات (حالات النمو الشاذة) اصطلاح proliferation (L. Proless = offspring or sprout) (L. Fero = to bear) كما يطلق أيضاً اصطلاح hyperplasia على النمو غير المحدود أو الزيادة غير المحدودة للانسجة والاعضاء .

ويطلق اصطلاح Histoid enations على النمو الزائد للانسجة وهى نموات عادية، محدودة الحجم مثل النمو الزائد، الذى يكون ملتصقاً بالعرق الوسطى الرئيسى والعروق الجانبية، وهناك نموات أخرى مميزة هى التى توجد على عروق أوراق الموالح كنتيجة للإصابة بفيروس نموات العروق Citrus vein - enation .

وكذلك الخطوط الطولية أو الانتفاخات على الأوراق مثل التى تنشأ نتيجة للإصابة بفيروس موزايك النرجس narcissus m وفيروس مرض فيجى قصب السكر، وفيروس تقزم الذرة . فالخطوط والانتفاخات التى تظهر على السطح العلوى لورقة النرجس المصابة بالتخطيط ترجع إلى زيادة فى الخطوط Hypertrophy أو فى العدد Hyperplasia بالنسبة للخلايا العادية palisade cells ، ويشبه هذا ما يحدث فى بعض النباتات نتيجة لزيادة الرطوبة . والزوائد التى تظهر على السطح السفلى لأوراق قصب السكر المصاب بمرض فيجى تكون نتيجة لتشوه فى اللحماء أو النسيج الملاصق له، ولذلك فهى تمتد بطول السطح أسفل

العروق، وكذلك الحال في مرض تقزم الذرة. وليس هناك حد فاصل بين هذه الزوائد بين التدرنات tumours، إلا أن التدرنات أقل حجماً من الزوائد، وناتجة عن شذوذ غير عادي للخلايا والأنسجة. والتدرنات هي نموات شاذة دون أى نظام، ولها أوجه وأشكال عدة، ويختلف أصل وطبيعة التدرنات باختلاف الفيروس المسبب، والنباتات المائل والجزء المصاب من النبات. وعادة ما تكون الانتفاخات الدرنية التي توجد على الأوراق صغيرة الحجم مثل التدرنات التي توجد على السطح السفلي لعروق ورقة البرسيم القرمزي *Crimson clover* الناجمة عن التدرن الجرحي *wound tumour V.* وتشبه إلى حد ما الزوائد، ولقد درست التدرنات الناتجة عن فيروس التدرن الجرحي للبرسيم الحلو (*Mililotus alba and M. officinalis*, Sweet clover) بشكل أوسع، وكذلك التي على جذور السيسل (*Rumex acetosa*) sessel، وعدد آخر من أنواع النباتات، وقد وجد أنه ربما تصل تدرنات الساق إلى قطر حوالى 1 سم، وهذه توجد على النباتات المصابة إصابة عامة، وتنشأ التدرنات في البرسيمك في الخلايا الملاصقة للخلايا المجروحة، وتتكون حتى على قاعدة العقد البكتيرية والتدرنات الخشبية على النباتات الصغيرة للليمون المخرفش *rough lemon* وعلى أشجار الليمون الهندي *west indian*، التي اكتشفت حديثاً مع وجود فيروس نموات العروق الزائدة. وربما توجد النموات الزائدة Nistoids على الثمار، كما في مرض الخوخ *wart dis.* وترتفع هذه التدرنات على سطح الثمار، وتشمل نصف أو أكثر من نصف الثمرة وتكون القشرة خشنة للملمس ممتلعة بهجيوب صمغية، وفي بعض الحالات يتصلب النسيج المتناثر.

وتنتج كثير من الفيروسات نموات زائدة وتدرنات تشبه الانتفاخات الناتجة عن الكائنات المتطفلة كالحشرات والنيما تودا والبكتيريا. ويجب التفرقة بين التدرنات الناتجة عن الفيروسات والانتفاخات الناتجة عن الكائنات الطفيلية، التي تظهر كتدرنات *galls*، والتي تؤدي إلى دخول اصطلاح *galls* في علم الفيروسات، ويعتبر لفظ *gall* غير دقيق تماماً.

وكذلك تظهر انتفاخات على سيقان الكريز صنف نابليون في ولاية أوريجون *Oregon* بالولايات المتحدة؛ نتيجة للإصابة بفيروس التقرحات السوداء في الكريز؛ حيث تظهر أولاً مناطق منتفخة، والتي تتشقق فيما بعد وتنمو إلى تقرحات سوداء. ومرض فيروس آخر

Prune diamond canker وهو يشبه السابق حيث إن الانتفاخات فيه أساساً تدرنات، ولا بد أن يؤخذ في الاعتبار أن اصطلاح التقرح Canker ينسب إلى نيكروزيس محدود في قشرة السيقان الخشبية، حيث يظهر النيكروزيس كمظهر ثانوي، رغم أن نيكروزيس التقرحات يكون أساسياً أولاً، وبعد وقت يظهر إنتاج الكالوس حول الجرح؛ خاصة فيما يسمى Perennial cankers ، ويطلق في بعض البلدان اصطلاح التقرحات على التقرح والسرطان معاً Canker and cancer كما هو في هولندا، ولكن اصطلاح السرطان cancer يستعمل فقط في علم الطب، ولهذا يقترح أن هذه التغيرات التشبيهية بالسرطان Canker like abnormalities التي تحتوى نيكروزيس تسمى Necrosis tumours ، أما إذا كان تكوين الكالوس ثانوياً فتسمى tumorous cankers .

ربما تنتفخ أفرع سيقان بأكملها معطية مظهر إصابة، يسمى انتفاخ الأفرع Shoot ، والمثل على ذلك هو مرض الفرع المتضخمة swollen shoot في الكاكاو في غرب أفريقيا، وقد تظهر السرطانات الناشئة من أسفل الساق انتفاخاً تسبب لها زيادة في القطر، قد يصل إلى ضعف القطر الأصلي، وهذه ربما تكون في العقد، أو بين عقد ولكنها دائماً طرفية terminal، وترجع الانتفاخات إلى زيادة في نسيج الخشب كما يحدث تشوه بسيط لنسيج اللحاء .

تعتبر التغيرات في شكل الأوراق مظهراً عادياً بالنسبة للأمراض الفيروسية، ورغم أن هذه الحالات تؤثر على سلوك ونمو الأوراق، إلا أنه من الصعب وضعها في اصطلاحات مورفولوجية، يمكن إرجاع معظمها إلى عدم اتزان في النمو في العروق والنسيج بين العروق .

النقص في نمو نسيج النصل يؤدي إلى ضيق النصل Leaf narrowing ، كما في حالة مرض الكريز؛ حيث يصحب التشوه بضيق طرف الورقة بشكل ظاهر، أو في الترمس الأصفر في حالة مرض موزايك الترمس. مثل آخر هو مرض الورقة الضيقة في الطماطم المتسبب عن الإصابة بفيروس موزايك الدخان أو موزايك الخيار. وربما تصل ريققات الطماطم المصابة إلى الشكل الريشي fern leaf ، وربما يغيب النصل ولا يبقى إلا العرق الوسطي، وهذه الحالة تسمى shoe stringing وأحياناً يصل إلى الشكل المروحي في العنب Fan Leaf ، عندما يصبح النقص غائراً وتتجمع عروق الورقة الخامسة بالقرب من القاعدة. وعلى العكس فرما

يحدث تشوه فى الاوراق نتيجة الزيادة فى نمو النسيج بين العروق، ويؤدى هذا إلى سطح مجعد للورقة bubbled surface، كما فى حالة تجعد ورق الدخان، والذي يسمى rugosity وفى حالة وجود خطوط furrowing أو تجعد wrinkling النصل، تستعمل اصطلاحات curling crinkling، كما فى حالة Sugarbeet leafcurl, turnip crinkle، ومن الصعب التفرقة بين curling, crinkling رغم أنه curling. احتمال آخر للنموات غير المتوازية هو نقص العنق والعرق الوسطى للورقة، وهذا واضح فى مرض Potato bouguer dis.، وهذه الحالة تؤدى إلى تزاخم الوريقات وتجعلها حول العرق الوسطى من أسفل.

وهناك ظاهرة شائعة فى الامراض الفيروسية وهى ظاهرة Epinsaty

(Gr. epi = on, upon : nastos - pressed close)

وهى عبارة عن زيادة فى نمو السطح العلوى للمعضو مثل نصل الورقة، وهذا يؤدى إلى تجعد سفلى للورقة كلها، وقد يؤدى إلى تجعد علوى Upward curling وقد يسمى المظهران Leaf rolling.

ومظهر زيادة نمو الاذنات hypertrophy of spatules فى اوراق التفاح المصابة بفيروس مكنسة العجوز، وهذا مظهر مهم فى التشخيص.

وهناك تغيير آخر يؤثر على طبيعة نمو النبات، وهو تساقط الاوراق قبل نضجها (Leaf abscission, leaf casting, defoliation). وهذه ظاهرة دائماً ما تقابل فى الامراض الفيروسية ومثلها مرض اصفرار الكريز، وفيه تبدأ بالاوراق الكبيرة ثم تمتد للاصغر، وربما تساقط الاوراق قبل ظهور أى كلوروسيس، وربما يصل التساقط إلى ٥٠٪ من الاوراق.

وكذلك فيروس Y البطاطس، وهنا يكون تساقط الاوراق leaf dropping متبوعاً بالذبول أو التدننى withering، ويمكن أن توصف النموات الزائدة فى الاوراق على أنها organoid أى تغيير عضوى؛ لأنها تمس التركيب الداخلى للورقة. وهذه النموات غالباً ما تنمو على السطح السفلى، وتصبحها دائماً مناطق صفراء، وهذه النموات تشبه الاوراق فى تركيبها، فلها طبقة سطحية أبيدرمس وخلايا عمادية واسفنجية وأبيدرمس سفلى.

وقد تكون هذه النموات على شكل فنجان cup - like حول الجزء الاصغر فى حالة إصابة

فيروس موزيك الدخان لنباتات دخان *N. poniculata*, *N. tomentosa* ، وكذلك فى نباتات البسلة والفلو البلدى بعد إصابتها بفيروس النموات الزائدة فى البسلة PEMV ، وقد تختلف أشكال النموات، فتكون على هيئة جناح wing أو فنجان أو مركب boat أو قمع funnel إلى شكل محارة Shell - like ، وربما يتسبب التغير المورفولوجى فى الساق عن اختزال فى النموات. وقد تؤدى الإصابة بالفيروس إلى قصر فى السلاميات، كما هو الحال فى أفرع العنب، والتي قد تصل إلى حالة من القصر بحيث تصبح العقدتان متلاصقتين، وتسمى هذه الحالة double nodes ، وفى هذه الحالة تتزاحم الأوراق rosette، كما هو فى حالة تزاحم أوراق الفول السودانى.

تغير آخر مورفولوجى فى الساق وهو النمو المتعرج zigzag ، كما فى حالة العنب المصاب بفيروس الورق المروحي. وهذه تعتبر ظاهرة مميزة، عندما تتساقط الأوراق شتاء. وربما تحدث نموات درنية هوائية aerial tuber عند إصابة نباتات البطاطس بفيروس ستلبرور أو فيروس مكلسة العجوز witches, broom ، وهناك تغير مورفولوجى على الثمار، وهو ما يحدث لثمار الدانورا نتيجة للإصابة بفيروس T. etch حيث يقف نمو الأشواك على الثمار.

وتعتبر ظاهرة مكلسة العفريت witches, broom من التغيرات المورفولوجية، وهذه الظاهرة تكون نتيجة لتغيرات فى النمو الخضري والزهرى. ومن الأمثلة اخضرار البرسيم clover virescence وتضخم برعم الطماطم tomato big bud ستلبرور.

وتعتمد مظاهر الإصابة على طور نمو النبات عند الإصابة ولحد ما إلى نوع النبات. وأحياناً ما تؤدى ظاهرة مكلسة العفريت إلى أن تنمو البراعم الزهرية إلى أجزاء خضرية، وتسمى هذه الحالة anthalses.

(Gr. anthos - flower, lysis - desintegration, solution).

وتتميز هذه الظاهرة مرض الاخضرار فى الطماطم، وهو مرادف لمرض تضخم البرعم. وعندما تتحول الأجزاء الزهرية إلى نموات خضرية فى المراحل الأخيرة من anthalyses ، تسمى هذه الظاهرة Phyllody (Gr. Phyllon = leaf)؛ أى تورق الأزهار.

أما اصطلاح proliferation فيعبر عن نموات خضرية من زوايا البراعم الزهرية، وتؤدى

كل امراض فيروس مكنسة العجوز التى درست إلى نموات مكنسة العجوز، كما تؤدي إلى ظهور درنات صغيرة، وقد تكون هوائية كما فى البطاطس.

ب - التشوهات الثانوية : Secondary malformation

وهى تشوهات ترجع إلى سبب آخر، والتي تتسبب أساساً عن الإصابة الفيروسية الكاملة، وهذه قد تؤثر على الشكل الخارجى للنباتات المصابة، دون التمييز بين أن تكون عضوية أو نسيجية.

ودائماً ما تكون الاوراق الملونة أقل حيوية، كما أن الاوراق التى بها موزايك ربما يؤدي هذا المظهر إلى تغيرات داخلية تسبب اشكالا، لا يمكن وصفها مورفولوجياً مثل تأثير فيروس موزايك الدخان على أوراق الدخان، أو فيروس موزايك الفاصوليا على الفاصوليا الفرنساوى French bean ؛ حيث توجد المناطق القائمة على جانبي العرق الوسطى وتنتشر بسرعة.

ويوجد مثل آخر لانتشار هذا الموزايك مثل موزايك الخيار، وما يؤديه من تجمعات rugosity, crinkling, curling نتيجة لنقص فى سرعة النمو لنسيج العروق.

هذا التغير يختلف شكلاً عن التغير الاول فى شدته وعدم انتظامه.

العوامل التى تؤثر على أعراض أمراض الإصابة الفيروسية :

من العوامل المهمة التى تحدد دراسة أمراض النباتات الفيروسية، هو تدخل الظروف البيئية فى شكل الاعراض التى يعطيها النبات المصاب بتلك الامراض، فعند وصف أعراض أحد الامراض الفيروسية يجب تحديد الظروف البيئية التى ينمو فيها العائل؛ حيث إن تلك الظروف تغير من تفاعل النبات لوجود الفيروس فى خلاياه، وبالتالي الاعراض التى تظهر على العائل. وعلى العموم لا يمكن وضع أسس عامة للاختلافات التى تحدث فى الاعراض من جراء اختلاف العوامل البيئية، إلا أن معظم أعراض الامراض الفيروسية تأخذ وقتاً أقل فى الظهور بزيادة درجة الحرارة والضوء.

١ - تأثير الحرارة والضوء على الأعراض :

من المعروف أن معظم الفيروسات التى تسبب عرض تبرقش الاوراق، يكون تأثيرها

فيروسات النبات

واضحاً جداً خلال شهور الشتاء، ومعنى آخر أن عرض التبرقش يكون واضحاً في خلال الشتاء عنه في خلال الصيف، وقد وجد أن عامل الحرارة هو المحدد؛ لذلك فنجد أعراض التبرقش التي تنشأ عن إصابة نباتات الدخان بفيروس التبرقش تقل حدتها تدريجياً بارتفاع درجة الحرارة، إلى أن تختفي تقريباً عندما ينمو النبات المصاب على درجة حرارة ٣٥م، وإذا وضع النبات على الظروف العادية ثانية.. فإن الأعراض تظهر ثانية بوضوح. أما إذا ارتفعت درجة الحرارة إلى ٣٧م لمدة ١٠ أيام.. فإننا نحصل على سلالة من فيروس تبرقش الدخان تعطى تبرقشاً خفيفاً جداً، حتى ولو وضعت النباتات ثانية تحت درجة حرارة منخفضة. كذلك وجد أن تلك الأعراض تختفي عندما ينمو النبات تحت درجة حرارة أقل من ٧م.

كذلك وجد أن أعراض التبرقش التي يحدثها فيروس تبرقش البطاطس (فيروس X) تختفي تماماً عندما تزيد درجة الحرارة عن ٢٤م.

ومن الأعراض التي تتأثر بارتفاع الحرارة هو عرض النقط الميتة Local lesions، فنجد أن النقط الميتة التي يسببها فيروس تبرقش الدخان على أوراق نباتات *N. glutinosa* تكبر في المساحة، وتنتشر بسرعة على سطح الورقة، بدلاً من أن تكون محددة، كلما ازدادت الحرارة إلى أن تصل إلى درجة ٣٥م؛ حيث إنه بتلقيح النباتات بالفيروس ووضعها تحت تلك الدرجة أو أعلى منها فإن الأعراض التي تظهر على الأوراق الملقحة تكون عبارة عن مساحات صفراء Blotches، ويتبع ذلك انتقال الفيروس إلى جميع أنسجة النبات، بدلاً من أن يكون محدوداً في النقط الميتة.

وبالعكس نجد أن الفيروسات التي تسبب تجمع الكربوهيدرات في أوراق النباتات التي تصاب بها، تكون أعراضها في الغالب أشد جداً خلال شهور الصيف عنها خلال شهور الشتاء، وهذا يرجع إلى شدة الضوء التي تتعرض له النباتات، فنجد أن فيروس التفاف أوراق البطاطس Potato leaf roll virus يسبب التفافاً شديداً في أوراق النباتات المصابة خلال شهور الصيف، ولكن لا تظهر تلك الأعراض بوضوح خلال شهور الشتاء، وبالمثل فيروس إصفرار بنجر السكر Sugar beet yellows virus، وفيروس انحناء قمة بنجر السكر Sugar beet curly top virus.

ولقد وجد أن سرعة تكوين النقطة الميتة التي يحدثها فيروس تبرقش الدخان على أوراق نباتات *N. glutinosa* عندما تكون النباتات نامية تحت درجة حرارة ١٥ م تكون حوالي ٥٠٪ من سرعة تكوينها، عندما تكون النباتات نامية على درجة حرارة ٢٠ م.

ولقد ذكرنا من قبل أن حلقات Ringspots التي تسببها بعض الفيروسات تظهر خلال الشتاء، ولكنها تختفي، وتحل محلها أعراض تبرقش خلال الصيف. فنجد أن فيروس الحلقات الذي يصيب الدخان Tobacco ringspot virus يحدث نقطاً ميتة على جميع أجزاء النباتات المصابة إذا وضعت النباتات في الظلام، مما ينتج عنه موت النباتات، أما إذا وضعت النباتات في مكان مظلل فإننا نجد أن حلقات كثيرة تتكون داخل بعضها على الأوراق، ويفصل بينها أنسجة خضراء حية. أما إذا وضعت النباتات تحت الظروف الطبيعية فإن الحلقات التي تظهر على الأوراق، تكون كبيرة الحجم وقليلة العدد.

٢ - ظروف النباتات وقت حدوث الإصابة:

تزداد أعراض الأمراض الفيروسية وضوحاً كلما كانت ظروف نمو النباتات مناسبة وعادة ما تزيد مقاومة النبات للإصابة بزيادة عمر النبات، وإذا ما حدثت العدوى فإن الزيادة في مستوى الآزوت يؤثر في مظاهر الإصابة، فتكون أكثر وضوحاً كما هو الحال في مرض تقزم وإصفرار البصل ومرض موزايك الطماطم. ووجد أن الزيادة في سرعة النمو للنباتات المصابة غالباً ما تقلل من حدة مظاهر الإصابة الخارجية. كما وجد أن زيادة بعض العناصر عادة ما يقلل من شدة الإصابة، وغالباً ما يساعد على تخفى مظاهر الإصابة (Mask) فمثلاً تقل حدة مظاهر إصابة الدخان بالموزايك في حالة زيادة التسميد بالفوسفور والبوتاسيوم.

٣ - تأثير الضوء على حساسية النبات للعدوى بالفيروس:

وجد أن تقليل الضوء قد يزيد حساسية النبات للعدوى ببعض الفيروسات، فنجد أن عدد النقطة الميتة التي تظهر على أوراق نباتات *N. glutinosa* التي عرضت للظلام لمدة يتراوح ما بين ٢٤ - ٧٢ ساعة قبل التلقيح بفيروس موزايك الدخان، تكون أكثر بكثير من عدد النقطة الميتة التي تظهر على أوراق تلك النباتات، إذا لم تعرض للظلام قبل التلقيح.

٤ - تأثير الحرارة على الفيروس في الأنسجة :

عند تعرض بعض النباتات المصابة بأمراض فيروسية لدرجات حرارة مرتفعة .. فإن أعراض تلك الأمراض تختفى بسبب موت الفيروس داخل الأنسجة، فنجد أن نباتات الخوخ المصابة بفيروس الاصفرار Yellows والتورد Rosette تصبح خالية من تلك الفيروسات، إذا نمت على درجة حرارة ٣٥ م°.

٥ - الأصناف :

قد تختلف الأعراض التي يسببها فيروس ما اختلافاً شامعاً باختلاف الأصناف، فنجد مثلاً الأعراض التي تظهر على شتلات الليمون البلدى المصابة بفيروس التدهور السريع Tristeza virus، هي عبارة عن اصفرار متقطع في عروق الورقة، وظهور تنقرات Pits في خشب الشتلات. ومثل تلك الأعراض لا تظهر على الأصناف الأخرى من الليمون.

٦ - سلالات الفيروس :

كذلك تختلف أعراض الفيروس الواحد باختلاف سلالاته، فنجد أن فيروس تبرقش الدخان له عدة سلالات، كل سلالة منها تسبب أعراضاً مختلفة تماماً عن أعراض السلالة الأخرى، فبعضها يعطى تبرقشاً أصفر، والآخر تبرقشاً خفيفاً وثلاثاً يعطى أعراضاً محددة حول العروق Vein banding وهكذا. وإذا لقح نبات الدخان بإحدى تلك السلالات أولاً، ثم لقح النبات ثانية بسلالة أخرى .. فإن الأعراض التي تظهر هي أعراض السلالة الأولى؛ حيث إنها تمنع السلالة الثانية من التكاثف في النبات، وهذه الظاهرة تعرف بالوقاية بالتضاد Cross Protection.

٧ - وجود فيروس آخر في العائلة :

إذا وجدت سلالة من الفيروس نفسه داخل النبات .. فإنه عادة ما تحصل حماية له من الإصابة بأى سلالة أخرى للفيروس نفسه، أما إذا وجد فيروس من نوع آخر داخل النبات فربما تحصل مظاهر إصابة إضافية أكثر شدة من المظاهر الناتجة من فيروس واحد، كما هو الحال عند إصابة الطماطم بفيروس موزايك الدخان، وفيروس X البطاطس (Synergism).

الباب السابع

**إنتاج الأمصال المضادة والتشخيص
السيرولوجى لفيروسات النبات**

Production of Antisera and Serological

Diagnosis of Plant Viruses

إنتاج الأمصال المضادة والتشخيص

السيرولوجى لفيروسات النبات

Production of Antisera and Serological

Diagnosis of Plant Viruses

الفصل الأول

الانتيجينات والأمصال المضادة

Antigens and Antibodis

عندما تحقن الفيروسات النباتية فى الحيوانات ذوات الدم الحار، فإنها تشجع على تكوين بروتين متخصص فى مصل دم هذه الحيوانات، يطلق عليه اسم الاجسام المضادة Antibodies أو اميونوجلوبولين، وهذه الاجسام المضادة تسبح فى الدورة الدموية، ولها القدرة على الاتحاد مع الفيروسات النباتية التى شجعت على تكوينها (الانتيجين)، وقد كان Dvorak سنة ١٩٢٧ أول من نبه إلى أن الفيروسات النباتية تملك خاصية الإنتيجينية.

ويعتبر تفاعل الاجسام المضادة مع الفيروسات النباتية الكاملة أو مكوناتها على جانب كبير من الأهمية فى الكشف عن الفيروسات النباتية Detection of Plant Viruses وتشخيص مسببات الأمراض الفيروسية Diagnosis، وفى التقديرات الكمية للفيروسات وكذا فى تقسيم الفيروسات، ويعتبر هذا التفاعل أساس علم السيرولوجى Serology .

الانتيجينات : Antigens

يعرف الإنتيجين بأنه المادة التى لها القدرة على تنشيط أو تنبيه عملية تكوين الاجسام المضادة فى دم الحيوانات ذات الدم الحار، والتى لها القدرة على التفاعل أو الاتحاد مع هذه الاجسام المضادة عند خلطهما معاً خارج جسم الحيوان *Invitro* .

وهناك خاصيتان يتميز بها الإنتيجين أولهما أنه يكون قادراً على تنشيط تكوين الاجسام

المضادة في دم الحيوان المحقون به، وتسمى هذه الخاصة بالقدرة المناعية *Immunogenicity*. أما الخاصية الثانية فهي قدرة هذه الإنتيجينات على الاتحاد مع الأجسام المضادة، وتشير هذه الخاصية إلى القدرة الإنتيجينية للمادة *Antigenicity*، وتكون الجزيئات الكبيرة أكثر قدرة مناعية عن الجزيئات الصغيرة، وحيث إن الفيروسات النباتية عبارة عن جزيئات كبيرة تحتوى على البروتين فإنها تعتبر ذات قدرة عالية على تنشيط تكوين الأجسام المضادة عند حقنها بصورتها الكاملة، فى حين تكون الوحدات البنائية *Portein subunit* للكابسيد أقل كفاءة فى ذلك.

الخصائص العامة للأنتيجينات:

يمكن التأكد من أن مادة ما لها صفة الأنتيجينية عن طريق حقنها فى حيوان التجارب مثل الأرانب أو الفئران أو خنازير غينيا أو الخيول، ثم فصل سیرم الدم وخلطه مع هذه المادة بواسطة أو بأخرى من وسائل الكشف السيرولوجى فإذا كان التفاعل إيجابياً كانت المادة أنتيجيناً.

وقد أشار لاندستينر *Landsteiner* أن هناك بعض المواد التى ليس لها قدرة مناعية، أى لا تنشط تكوين الأجسام المضادة فى دم الحيوان، ولكن لها القدرة على التفاعل مع الأجسام المضادة *Invitro* وأطلق على هذه المواد اسم *Haptens* أو الهابتينات. وقد وجد لاندستينر أن بعض الليبيدات والسكريات العديدة تسلك مثل هذا السلوك، واستلزم الأمر مزيداً من الدراسة لتحديد مفهوم الهابتينات.

فقد أطلق *Topley & Wilson* اصطلاح الهابتينات المركبة *Complex Haptens* على المواد التى تتحد بالاختصاص مع الأجسام المضادة المتخصصة مكونة راسباً مرئياً، دون أن تكون لها القدرة على تنشيط تكوين مثل هذه الأجسام. على سبيل المثال عند حقن الأرانب بمستخلص كحولى لكلىة خنزير غينيا، لا تتكون أجسام مضادة، ولكنها تتفاعل مع الأجسام المضادة المستخلصة من أرنب محقون بمستخلص كلية الخنزير فى محلول ملحي.

كما أطلق اسم الهابتينات البسيطة *Simple haptens* على المواد التى ليس لها القدرة على تنشيط تكوين الأجسام المضادة عند حقنها فى دم الحيوان، وكذا لا تعطى تفاعلاً مرئياً

عند خلطها بالمصل المتخصص، ولكنها تتحد مع هذه الاجسام المضادة، وتتمتع تفاعلها مع الانتيجين الكامل، الذى ادى إلى ظهورها، فعلى سبيل المثال فعند التحليل المائى للسكريات العديدة المستخلصة من البكتريا pneumococcal يتجمع مركب عند خلطه مع المصل المضاد للسكر العديد من هذه البكتريا، أخفق فى تكوين راسب يمكن رؤيته، ولكن هذا المركب منع تكوين راسب أيضاً عند خلط السكر العديد مع المصل المضاد له، ويطلق على هذا الاختبار اسم اختبار التثبيط Inhibition Test .

وغالباً ما تكون الهابتينات البسيطة عبارة عن جزيئات صغيرة مثل حمض الطرطريك Tartaric Acid أو حمض البنزويك benzoic .

ولقد أوضحت بعض التجارب الحديثة أن بعض الهابتينات المركبة من الممكن أنه تكون أنتيجينات، إذا ما حقنت فى بعض الحيوانات، بينما تكون هابتينات إذا ما حقنت فى البعض الآخر. فقد وجد أن السكريات العديدة للبكتريا تنشط تكوين الاجسام المضادة إذا ما حقنت فى الفئران أو الخيول والإنسان، بينما لا تنشط تكوين مثل هذه الاجسام إذا ما حقنت فى الارانب.

العوامل التى تحدد الانتيجينية:

غالباً ما يكون الوزن الجزيئى للانتيجين ١٠,٠٠٠ أو أكثر، وتعتبر بروتينات الدم أنتيجينات مثالية لأن وزنها الجزيئى أكثر من ٦٠,٠٠٠ والمواد ذات الوزن الجزيئى المرتفع مثل الهيموسيانين (٦٧,٠٠٠) وفيروس TMV (١٧,٠٠٠,٠٠٠) تعتبر أنتيجينات مثالية، وكذا الببومين البيض يعتبر أنتيجينا جيداً لأن وزنه الجزيئى ٤٠,٠٠٠، ومع ذلك فقد وجدت أنتيجينات ذات وزن جزيئى منخفض يصل إلى ١٤,٠٠٠ مثل الرايبونوكليز Ribonaclease و ٥٠٠ مثل Phenyliso cyanate.

غالباً ما تكون الانتيجينات ذات سطح جزيئى كبير، وقد لوحظت أهمية السطح على الانتيجينية عندما أمكن تحويل بعض المواد غير الانتيجينية ذات الوزن الجزيئى المنخفض إلى مواد أنتيجينية عند ادمصاصها على سطح مواد أخرى غير أنتيجينية مثل الفحم وأيدروكسيد الألومونيوم والكوارتز، وتجدر الإشارة إلى أن السطح لا يعتبر العامل الاساسى، بل ترجع

أهميته إلى إظهار العوامل المحددة للانتيجين Determinant Sites الموجودة على سطح الجزيئات .

ولقد ثار جدل الباحثين واهتمامهم لفترة طويلة حول سبب عدم تكوين الكائن الحي (الحيوان) أجسام مضادة لانتيجينات جسمه، وقد أطلق Finner & Burnet سنة ١٩٤٩ على ذلك اسم التمييز الذاتي Self recognition؛ أى قدرة جهاز تكوين الأجسام المضادة فى جسم الحيوان على تمييز ما هو ينتمى إلى الحيوان نفسه، أو ما هو غريب عنه . ولذلك فإن المادة تكون أنتيجيناً بالنسبة للحيوان التى تعتبر غريبة عنه، ولذلك يجب الإشارة عند التحدث عن الانتيجينية لمادة ما إلى نوع الحيوان، الذى ثبت أن هذه المادة تعتبر أنتيجينية بالنسبة له، فعلى سبيل المثال فإن البيومين سيرم دم الأرانب يعتبر أنتيجيناً بالنسبة للدجاج ولكن ليس أنتيجيناً بالنسبة للارانب .

وفى بعض الحالات النادرة والشاذة تعتبر بعض الخلايا أو المواد أنتيجينات بالنسبة للحيوان الذى استخلصت منه، وفى هذه الحالة يطلق على الأجسام المضادة الناشئة عنها اسم Auto Antibodies؛ أى أجسام مضادة ذاتية، كما يطلق على عملية التحصين ذاتها اسم عملية التحصين الذاتى Auto Immunization ، فعلى سبيل المثال . . فإن البيروتين المستخلص من عدسة العين من الممكن أن يؤدى إلى تكوين أجسام مضادة إذا ما حقن فى فرد آخر من النوع نفسه، وتحت ظروف خاصة فى الفرد نفسه . وعند حقن خنازير غينية بالحيوانات المنوية لهذه الخنازير يتكون Spermocidin ، وهى عبارة عن أجسام مضادة للحيوانات المنوية Sperm ، ويمكن أن تتحد معها In Vitro ، ويجب أن نشير إلى أن المواد التى تسبب تكوين أجسام مضادة ذاتية Auto Antibodies تكون موجودة أساساً فى أنسجة خاصة، ولا ترتبط بالأنسجة المكونة للأجسام المضادة .

كما أن وجود كرات الدم الحمراء لفرد ما (إنسان مثلاً) من الممكن أن تحتوى على أنتيجينات تسبب تكوين أجسام مضادة، إذا ما حقنت فى فرد آخر أى إنسان آخر، ويطلق على هذه العملية اسم Iso - Immunization .

ولكى تؤدى الانتيجينات إلى تكوين الأجسام المضادة يجب أن يتم حقنها فى الحيوان، وغالباً يتم هذا الحقن فى الوريد أو الغشاء البيروتونى أو الحقن فى العضل، وينتج عن هذا

الحقن تغير فى مصل هذا الحيوان مثل تحول فى جلوبيولين الدم ينتج عنه تكوين أجسام مضادة Antibodies، أو أمينوجلوبيولين Immunoglobulin تكون لها القدرة على الاتحاد مع الانتيجين Antigen، والذى يسمى أيضاً أمينوجين Immunogen مكونة راسباً مرئياً.

الأجسام المضادة: Antibodies

يعتبر ظهور الأجسام المضادة فى دم الحيوانات أحد ردود الأفعال، التى تتم من جانب الحيوانات ذوات الدم الحار عند دخول جسم غريب له صفة الانتيجين إلى دمائها.

والجسم المضاد عبارة عن أمينوجلوبيولين، وله القدرة على الاتحاد أو الالتحام مع الانتيجين الذى سبب ظهوره.

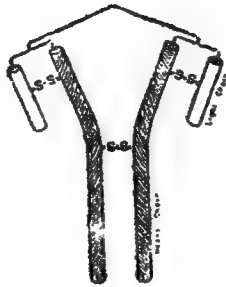
ويتركب جزئ الجسم المضاد (الأمينوجلوبيولين) من سلسلتين بولى بيتيد خفيفتين وسلسلتى بولى بيتيد ثقيلتين، وتلتحمان مع بعضهما برابطة ثنائى الكبريت، وتتكون كل سلسلة من منطقتين إحداهما ثابتة والأخرى متغيرة Variable، ولكل جزئ منها مكانان للاتصال بالانتيجين، كما هو الحال بالنسبة للأمينوجلوبيولين IgG حيث يوجد منها خمس أنواع هى D, E, A, M, G، والخلايا التى تقوم بإفراز الأجسام المضادة هى خلايا البلازما الموجودة فى الخلايا الليمفاوية (B)، وتوجد مرحلتان أساسيتان عند تكشف وإفراز الأجسام المضادة. المرحلة الأولى وليس لها علاقة بوجود الانتيجين، وتبدأ فى المهد، وتظهر باستمرار فى نخاع العظام عند البلوغ؛ حيث يظهر على سطح كل خلية جديدة عند تكونها جزئاً الأمينوجلوبيولين بتركيبه الخاص، وكذلك خاصية الالتحام مع الانتيجين، وكل أبناء هذه الخلايا تحمل نفس الأمينوجلوبيولين، ثم تهاجر تلك الخلايا إلى الأعضاء الأخرى الخاصة بالجهاز المناعى مثل العقد الليمفاوية، حيث تبقى كخلايا ساكنة فى غياب الانتيجين المناسب، والمرحلة الثانية فى تكشف الخلايا المناعية تحدث عندما يمر الانتيجين فى الدم حيث يلتحم مع المستقبلات السطحية لجزئ الأمينوجلوبيولين، وهذا يشجع الخلية المناعية على الانفصال والتحول إلى خلايا بلازما التى تفرز فى تيار الدم كميات كبيرة من جزيئات الأمينوجلوبيولين، ذات التخصص نفسه مثل ما هو موجود على الخلية المناعية الأم. وخلال عملية الانفصال تتكون أعداد كبيرة من نقاط التطفر فى DNA الموجود فى المنطقة المتغيرة

من السلسلة البولى ببتيدية، وتخضع هذه الطفرات للانتخاب من قبل الأنتيجين، ومن هنا يتواجد التوافق بين الجسم المضاد ومراكز الالتحام عند الأنتيجين.

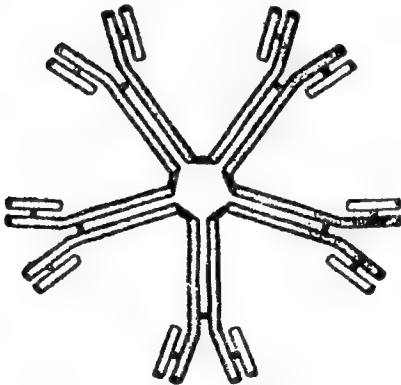
وجزئ الأنتيجين البروتينى يملك عديداً من التراكيب البنائية أو المراكز المحددة للأنتيجينة Antigenic Determinants على سطحه، وتلك يمكن تمييزها بواسطة المستقبلات الموجودة على سطح جزئ الأميونوجلوبيولين (الجسم المضاد) الخاص ببعض الخلايا المناعية الليمفاوية، ولذلك فإن لكل أنتيجين يوجد عديد من الخلايا الليمفاوية التى تختلف فى مناطق الالتحام الموجودة عليها، والتى يمكن تنشيطها عند دخول الأنتيجين، ولذا يكون المصل متعدداً Polyvalent؛ لانه يحتوى على عديد من الأجسام المضادة المختلفة، التى تتحد مع الأنتيجين، وكل منها ينشأ من خلية مناعية مختلفة.

بعض خواص الأميونوجلوبيولين

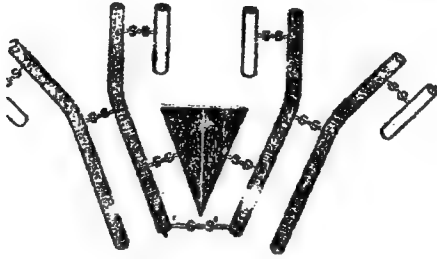
الوظيفة البيولوجية	نصف الحياة يوم	الوزن الجزيئى	mg/100ml	أميونوجلوبيولين
Fix complement cross placenta Hetero cytophpic antibody	٢٢ - ١٨	١٦٠,٠٠٠	١٨٠٠ - ٩٠٠	IgG
Secretary Antibody (surface protection)	٦,٥ - ٥	١٧٠,٠٠٠ and polymars	٢٩٤ - ١٥٦	IgA
1- Fix Complement 2- Efficient agglutination	٥	٩٦٠,٠٠٠	١٤٥ - ٦٧	IgM
غير معروف	٢,٨	١٨٤,٠٠٠	٤٠ - ٣	IgD
Raginic antibody	٢,٣	١٨٨,١٠٥	١٣٠ - ١٠ ug	IgE



(شكل ٧ - ١) أميونوجلوبيولين IgG



(شكل ٧ - ٢) أميونوجلوبيولين IgM



(شكل ٧-٣) أميونوجلوبيولين IgA

طبيعة الأجسام المضادة : Nature of Antibodies

نظراً لأهمية الاجسام المضادة فى المناعة ونظراً لكونها مواد حيوية متخصصة التفاعل، فقد لاقت طبيعتها الكيميائية كثيراً من المحاولات للكشف عنها. وعلى أية حال فحتى الآن لم يمكن معرفة الأساس التركيبى لهذه المكونات بالطرق الكيميائية؛ لوجود بعض الصعوبات، هي:

١ - من الصعب الحصول على كميات كبيرة من الاجسام المضادة بصورة نقية.

٢ - عدم تقدم طرق التحليل للبروتينات بما فيه الكفاية.

وعلى كل حال فقد أظهرت بعض الدراسات الخاصة بتغير تركيب الدم بعد عملية حقن الانتيجين أن الاجسام المضادة تتبع مجموعة الجلوبيولين Globulin من بروتينات المصل. وقد كان التمييز بين الجلوبيولين والالبومين فى المصل مبنياً على درجة الذوبان فى محاليل ملحية متعادلة، ولكن أمكن الفصل بينهما بسرعة الحركة فى مجال كهربائى؛ حيث يتحرك الجلوبيولين ببطء أكثر فى وسط يميل إلى القاعدية. وقد قسمت مكونات الجلوبيولين إلى ثلاثة أقسام تبعاً لحركتها، وأعطيت الأسماء ألفا - بيتا - جاما، مرتبة الأسرع فالأقل، وقد وجد أن الاجسام المضادة جميعها إلا القليل منها تتبع المجموعة الأخيرة أى الجاما جلوبيولين. والخلايا الليمفاوية لم يمكن زراعتها فى بيئة صناعية In Vitro، وللتغلب على ذلك قام

كيوهلر وميلستين Kohler & Milstein سنة ١٩٧٥ بانتزاع الخلايا الليمفاوية-B Lymphocytes من فأر بعد حقنه، ثم خلط هذه الخلايا مع خلايا فأر، وعن طريق انتخاب خلايا فردية معينة تم الحصول على خلايا تعطي نوعاً واحداً من الأجسام المضادة، وهي الأجسام المضادة الوحيدة Monoclonal، والتي تكون قد أفرزت من خلية ليمفاوية واحدة.

وقد سبق أن ذكرنا أن الفيروسات النباتية لها صفات أنتيجينية مميزة، ولكن ذلك لا يعنى أنه أمكن تحضير أمصال مضادة لكل الفيروسات النباتية المعروفة، فما زالت هناك بعض الفيروسات مثل فيروس التفاف أوراق البطاطس PLRV لم يفلح الباحثون حتى الآن فى تحضير مصل مضاد له. وقد يعزى الفشل فى تحضير أمصال مضادة لبعض الفيروسات النباتية إلى أسباب متباينة، منها أن يكون تركيز الفيروس ضعيفاً أو إلى عدم ثبات الفيروس حيث يفقد خواصه الأنتيجينية عند استخلاصه، أو إلى احتواء عصير بعض النباتات على نسب عالية من المواد التينية مثل الشليك، وهذه قد تؤدى إلى تغير فى خواص البروتين الفيروس عند الاستخلاص.

تحضير المصل المضاد للفيروس:

يتم تحضير المصل المضاد لفيروس نباتى ما بالحصول على هذا الفيروس بصورة نقية؛ أى تخليصه من كل الشوائب ذات الصفة الأنتيجينية مثل البروتين النباتى ثم حقن الفيروس النقى فى حيوان التجارب مثل الأرانب أو الفئران، ويتم الحقن فى الوريد أو العضل أو بكليهما معاً أو فى الغشاء البريتونى، أو تحت الجلد، وذلك بجرعات متساوية من الأنتيجين خلال فترة زمنية محددة؛ حيث ثبت أن حقن الحيوان بكميات صغيرة من الأميونوجين (الفيروس) خلال فترة من الوقت يعطى أجساماً مضادة أكثر منها لو حقنت هذه الكمية دفعة واحدة، كما يفضل إجراء الحقن بجرعات متزايدة متعددة للحصول على مصل ذو تركيز عال.

أما فى حالة الفيروسات التى يصعب الحصول عليها بصورة نقية تماماً، فإن الحقن يتم بجرعات صغيرة تتزايد من ٢ سم فى المرة الأولى إلى ١٠ سم فى الأخيرة، ويتراوح عدد

الحقنات ما بين ٥-١٠ مرات، ويفضل أن يكون الحقن فى العضل بمثل هذه التحضيرات، وعند الحقن فى الوريد يفضل استخدام معلق الفيروس فى محلول ملهى متعادل مع اقل كمية من الفوسفات والبورات، أما عند الحقن فى العضل أو تحت الجلد فعادة ما يخلط التحضير الفيروس قبل الحقن مع مساعد يشجع قدرتها الانتيجينية، ومن أكثر هذه المساعدات استعمالاً هو مساعد فروند Freund Adjuvant ، ويكون فى صورته غير الكاملة Incomplete عبارة عن برفين معدنى (٨٥٪) Mannide Monolecetos كعامل استحلاب (١٥٪) بينما يضم فى صورته الكاملة Complete حوالى ٠.٠٥٪ وزن / حجم من البكتريا Mycobacterium . ويتكون المستحلب من حجم واحد من المساعد مع حجم واحد من تحضير الفيروس . كما نستعمل مواد أخرى كمساعدات مثل الآجار والجينات الصوديوم، ولكنها لا تضارع مساعد فروند، الذى ظهر أنه يعطى أمصالاً مضادة ذات تركيز أعلى بكثير من الحقن فى الوريد، وعلى الأخص عند استعمال مساعد فروند الكامل .

وبعد أسبوعين إلى أربعة أسابيع من آخر حقنة، يمكن إجراء عملية الفصد للحصول على مصل . فإذا كان الحقن فى الوريد فعالياً ما تجرى عملية الفصد فى الأذن، التى لم تستعمل فى الحقن؛ حيث يتم تنظيف الأذن بالكحول، ويعمل جرح صغير فى العرق الأساسى للأذن بواسطة شفرة حلقة حادة، ويستقبل الدم فى مخبار زجاجى معقم، ويраعى أنه يجمع الدم على جدار المخبار؛ حتى لا تنفجر كرات الدم الحمراء وبعد جمع كمية الدم المطلوبة يوقف التنزيف، وإذا كان المطلوب هو الحصول على دم الأرنب فيمكن ذبحه .

يترك الدم فى المخبار أو الأنبوبة عند درجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين، ثم يفصل عن جدار المخبار برفق بواسطة ساق زجاجية معقمة، ثم يوضع فى الثلاجة لمدة ٢٤ ساعة ثم يفصل المصل، وتجرى له عملية طرد مركزى بطى لمدة ١٠ ق على سرعة ٢٠٠٠؛ لإزالة الفيبرين وشوائب الدم . ثم يحفظ المصل بطريقة خاصة حتى لا يتلف، وذلك بوضع المصل فى عبوات صغيرة مع إضافة مادة حافظة مثل الجلسرول أو أوزيد الصوديوم، وتحفظ على حالة سائلة على درجة حرارة ٤م°، كما يمكن حفظها على صورة مجمدة، أو مجفدة، وهذه هى

الطريقة الافضل للمحافظة على فاعلية الامصال لعدة سنوات .

الأجسام المضادة المونوكلونال : Monoclonal Antibodies

خلال الثمانينيات من هذا القرن زاد الاهتمام بشدة بالأجسام المضادة الـ Mon- (Mabs) oclonal لاستخدامها فى نواح متعددة للبحث فى فيروسات النبتات، وعلى وجه الخصوص فى اكتشاف وتشخيص تلك الفيروسات .

إنتاج الأجسام المضادة الـ : Monoclonal

يتم إنتاج تلك الأجسام المضادة حسب الشكل التوضيحي التالي :

١ - حقن الفأر بالانتيجين الفيروس

٢ - خلايا الميلوما المنزوعة التى

لا تعيش فى بيئة تحتوى على

التيمدين والامينوبترين (HAT)

خلط خلايا الطحال وخلايا الميلوما ثم

نقل لاطباق تحتوى على ٩٦ بقرة

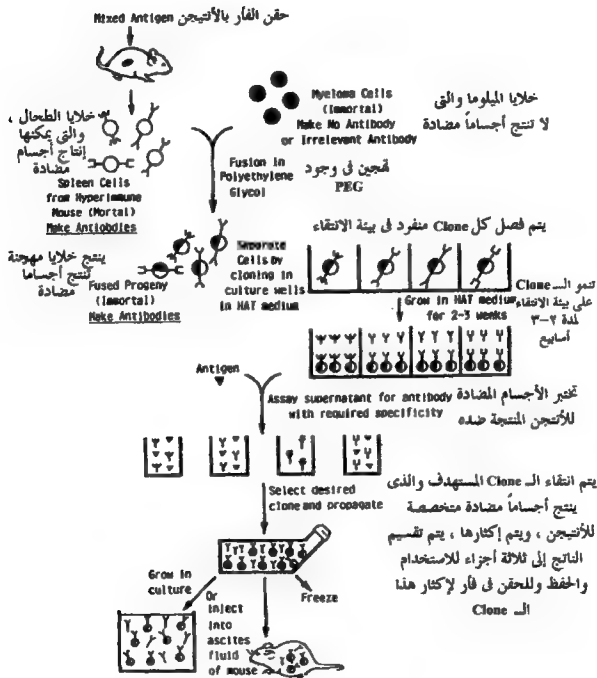
٣ - فى بيئة HAT تحتوى

خلايا الميلوما، ثم لا يمكن

خلايا الطحال مفردة أن تعيش، وتظل خلايا الهيبوديرما فى الزرعة .

٤ - Hypreourma Cells لاحظ أن خلايا الهيبوديرما تنمو، ثم تختبر المعلق لوجود الأجسام المضادة ذوات التحصن المطلوب .

إعادة زرع الهيبوديرما لتأكيد
وجود الزراعات الفردية، ثم تجميد
عينة الخلايا للتأكد من عدم فقد الخلايا.
ثم تحفظ المزرعة، المعلقات تعتبر
عينة للأجسام المضادة ذوات Titre منخفض.

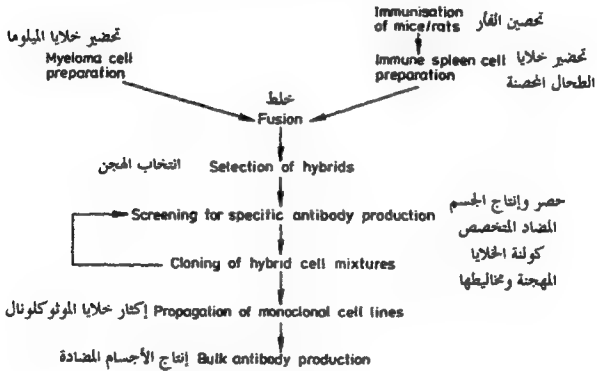


شكل (٧ - ٤) الأجسام المضادة للونوكولونال

ملاحظة: قدرة انسياب الخلايا لتعيش في hypoxanthion; aminopterin, Thymi dine (HAT) الماخوذة من خلايا الطحال؛ حيث تكون القدرة على التضاعف في بيئة مأخوذة من خلايا الميولوما. نوع اختبار التعرف الذي يستعمل في الخطوة 111 ليتعرف الاجسام المضادة ذات أهمية خاصة، وبعض المشتغلين يستعملون بعض اشكال من ELISA.

الدليل المعملى للأجسام المضادة المونوكلونال شكل (٧ - ٥)

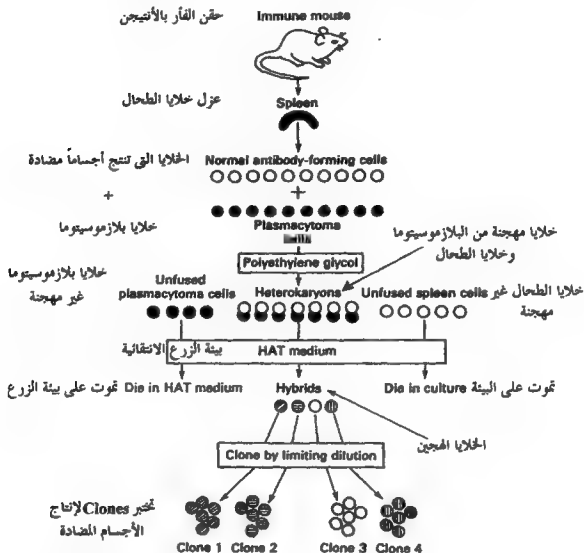
A Practical Guide To Monoclonal Antibodies



شكل (٧ - ٥)

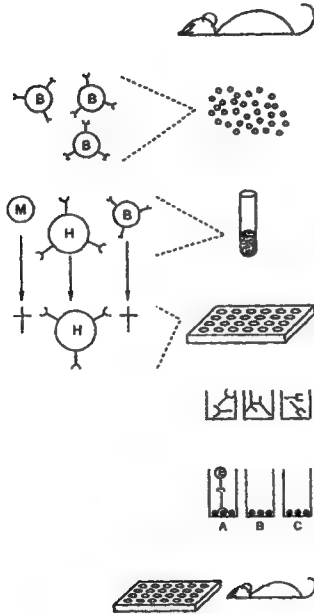
شكل (٧ - ٦) : الأجسام المضادة المونوكلونال : أساسيات والتطبيق

Monoclonal Antibodies: Principles and practice

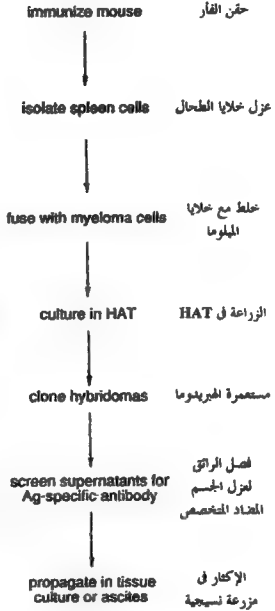


إنتاج الهيبوديرما . اندماج خلايا الطحال لفأر محصن مع HGPRT خلايا نيولوما (بلازما سيتوما) مستعملين بولي إيثيلين جليكول . اندماج منتجات البابينوكليت -b₁ nucleate تعرف باسم heterokaryons ، وفي الانقسام التالي تنتشر النواة nuclei خلايا هجين التي تنمو في بيئة HAT . خلايا الميولوما غير المندمجة (المتداخلة unfused) الميتة في بيئة HAT وخلايا الطحال غير المندمجة يمكنها أن تعيش لمدة أيام قليلة في المزرعة . تختبر الهجين لإنتاج الأجسام المضادة ذات الميزات المرغوبة ، وتكون بواسطة تخفيف محدود .

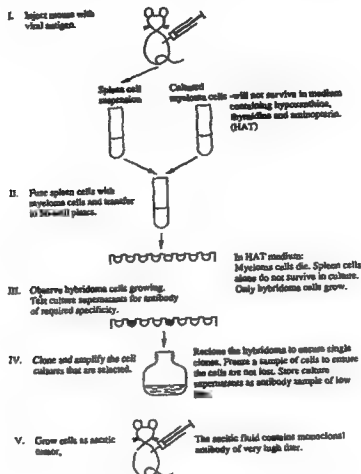
٢- إنتاج الأجسام المضادة المونوكلونال



2 Monoclonal Antibody Production



شكل (٧-١٧) الطرق العامة لإنتاج أجسام مضادة مونوكلونال في الفأر



شكل (٧ - ٧) ب

إنتاج الهيبوديرما. عندما يستحلب الانتيجين (imulsified) في أديجوفنت (adjuvant) مثل أديجوفنت فروند (Freund)، والذي يستعمل بعد ذلك لتحسين فار أو حيوان آخر. يحسن الفار باستمرار بانتيجين. ١ - ٢ أسبوع بعد التحسين الأساسي، وتعزل خلايا الطحال أو العقد الليمفاوية من الحيوان. ٣ - ٤ أيام بعد ذلك.

كما هو مبين في الرسم، فإن مسئولية الانتيجين تكون بولي كلونال - خلايا B تتحلل؛ بحيث تربط الانتيجين بواسطة تخصص مختلف قليلاً affinities، ونشاطات مضادة. (للتبسيط فإن تكوينات شكلها Y استعملت في هذا الرسم لتوضح الأجسام المضادة. كل هذه الأجسام المضادة طبيعة لها سلسلتان ثقيلتان وسلسلتان خفيفتان ٢٤٥

ومكانان لارتباط الانتيجين) يتخلل البولي إيثيلين خلايا B فى مخلوط خلايا الطحال بواسطة HGPRT خلايا المليوما باختلافاتها. تزرع الخلايا بعد ذلك فى بيئة HAT ، وتكون الخلايا قادرة على خلق بيورينات Purines بواسطة طريق Pathway Salvage ، الذى به HGPRT لـ hypoxanthine guanine phosphosibosal transferase إنزيم أساسى.

يحتوى محلول الأورام على الأجسام المضادة الفردية بتركيز عال، وتنمو الخلايا على هيئة أورام.

هذا الشكل يوضح خطوات إنتاج الأجسام المضادة Monoclonal.

ملحوظة:

قدرة الخلايا المخلوطة على البقاء فى بيئات الهيموزانثين والاميزيترين والثايميدين المستخلصة من خلايا البنكرياس فى حين قدرتها على التكاثر فى نبات مستخلص من خلايا الميلوما myeloma. ويعتبر نوع الاختبار الذى يستخدم فى الخطوة رقم ٣ للكشف عن وجود الأجسام المضادة على جانب كبير من الأهمية. ومعظم الباحثين يستخدمون بعض أشكال اختبار الـ ELISA

الاختبارات التى تستخدم فيها الأجسام المضادة: MABS

فى حالة الكشف من الفيروسات أو تشخيص مسببات الأمراض الفيروسية، فقد شاع استخدام الأجسام المضادة MABS بطريقة الـ ELISA. وللمرة الثانية يمكن القول أن توفير الظروف المناسبة لإجراء الاختبار من حيث الـ pH وغيره من العوامل ضرورى جداً لنجاح الاختبار. وفى عدد من التطبيقات، يمكن استخدام بروتوكول طريقة الـ ELISA نفسها، التى استخدمت للكشف عن الأجسام المضادة MABS أثناء عملية الفصل، حيث إنه من الممكن أن تنتخب أجساماً مضادة MABS مختلفة تماماً حسب طريقة الـ ELISA التى تستخدم، كما أن قدرة MAB على التفاعل مع أنتيجين معين تختلف كثيراً حسب طريقة اختبار الـ ELISA المستخدمة.

مزايا الأجسام المضادة: MABs

١ - متطلبات الحقن:

الفيروسات والأجسام المضادة يمكن حقنها بكميات قليلة من الانتيجين (بين ١٠٠ ميكروجرام أو أقل) ولو كان التحضير الفيروسي ملوثاً ببعض مركبات العائل أو غيره من الفيروسات، فإنه يظل من الممكن اختبار الـ MABs التي تتفاعل فقط مع الفيروس المطلوب.

٢ - أنها تعتبر طريقة قياسية: Standardization

حيث إن الأجسام المضادة MABs تعطي مركباً تفاعلياً واحداً الذي يمكن نشره في المعامل الأخرى، وبذلك يمكن التخلص من التضارب، الذي كان يحدث في الماضي عند استخدام الأمصال الـ Polyclonal. وبالإضافة إلى ذلك فإنه يمكن الحصول على كميات غير محدودة من الأجسام المضادة MABs عندما تتوفر الظروف المناسبة.

٣ - التخصص العالي: Specificity

تتحد الأجسام المضادة MABs فقط مع موقع أنتيجيني واحد فقط على سطح الانتيجين، ولذلك فإنها تتمتع بالتخصص العالي، وبذلك يمكن استخدامها كأداة فعالة في تمييز السلالات الفيروسية، كما أنه يمكن استخدام الأجسام المضادة MABs في دراسة بعض نواحي التركيب البنائي للفيروس، وكذا انتقاله بالحشرات.

٤ - التوافق العالي: High Affinity

إن عملية التصفية للكشف عن الأجسام المضادة MABs تؤدي إلى اختبار الأجسام المضادة التي تتمتع بخاصية الـ High Affinity التوافق العالي مع الانتيجين. والأجسام المضادة التي تتمتع بهذه الخاصية يمكن استخدامها بتخفيضات عالية، كما أنه يمكن استخدامها في تنقية الفيروسات باستخدام طريقة affinity chromatography.

عيوب الأجسام المضادة الفردية: MABs

١ - التحضير: Preparation

تتميز الأمصال العديدة Polyclonal بسهولة تحضيرها. بينما تحتاج طريقة عزل الأجسام

المضادة الفردية MABs إلى جهد كبير ووقت طويل وإلى حد ما مكلفة. ولذلك فإنه عند اقتراح مشروع ما تستخدم فيه الـ MABs فلا بد من أن يوضع في الاعتبار تلك العيوب أمام الميزات التي سبق الإشارة إليها.

٢- التخصص: Specificity

الاجسام المضادة الفردية MABs تكون على درجة عالية من التخصص في بعض التطبيقات خاصة التشخيص، ومع ذلك فإنه يمكن خلطها حتى يمكن أن تعطى تفاعلات على نطاق أوسع.

٣- الحماسية للتغيرات:

حيث إن الاجسام المضادة MABs على درجة عالية من التخصص، فإنها تكون حساسة جدا لاي تغيرات في الانتيجين الذي يمكن أن تحدث نتيجة للتجفيف والتحول الى الحالة الصلبة أو أي ظروف أخرى تحدث أثناء الاختبار. ومع ذلك فلا زالت الاجسام المضادة الفردية MABs تعتبر من أفضل الوسائل لدراسة كثير من النواحي في الفيروسات النباتية، ولكنها لا يمكن أن تحمل كلية محل الامصال Polyclonal.

الفصل الثاني

طرق تشخيص الفيروسات النباتية سيروlogياً

Serological diagnosis of Plant Viruses

إن أساس الطرق السيروlogية المستخدم في الكشف عن الفيروسات النباتية هو اتحاد أنتيجن الفيروس مع الأجسام المضادة له وتكوين راسب مرئيا .

ويمكن إجراء التفاعل بين الأنتيجين الفيروس والأجسام المضادة له antibodies بطرق مختلفة، وبالنسبة للفيروسات النباتية يمكن استخدام الطرق التالية لإجراء هذا التفاعل :

١ - اختبار التجمع Agglutination test

٢ - اختبارات الترسيب Precipitation test

٣ - اختبار الانتشار في الآجار Agar gel diffusion test

٤ - اختبار ربط العامل المذيب Complement fixatation

٥ - اختبار إبطال العدوى Neutralization of infection

٦ - اختبار الحساسية Anaphylaxis

٧ - اختبار المصل المرتبط بالأنزيم - Enzyme - linked Immuno

Sorbent assay (ELISA)

٨ - اختبار Dot - Blot

٩ - اختبار Westetm Blotting

١٠ - الميكروسكوب الإلكتروني للتحليل السيروlogي SSEM

١- اختبار التجمع : Agglutination test

وقد كان هذا الاختبار في الماضي شائعاً لسهولة إجرائه وإمكانية رؤية التفاعل مباشرة

وإمكانية استخدامه فى الحقل . ومن أبسط الطرق التى استخدمت منذ الثلاثينيات هى طريقة النقطة Drop test method عن العالمان دونين وبابوفا Dounin & Papova حيث توضع نقطة من عصير النبات المصاب بالفيرس على شريحة زجاجية، ثم تخلط مع نقطة من المصل المضاد للفيرس، ويقلب المخلوط فينتج عن ذلك راسب مرئى، يمكن ملاحظته بالعين المجردة فى خلال ثوان قليلة، ويساعد على رؤية الراسب تجمع الكلوروبلاستيدات عند اتحاد الفيرس مع الاجسام المضادة، ومن هنا اطلق على الاختبار اسم اختبار التجمع، وعموماً يطلق هذا الاسم؛ حينما يكون الانتيجين الداخلى فى التفاعل خلية كاملة مثل البكتريا، وحيث يطلق على اتحاد الفيرس النباتى النقى مع الاجسام المضادة له يطلق عليه اسم راسب، بينما يطلق على الاختبار باسم اختبار الترسيب .

وقد ظهرت مواد أخرى مثل خلايا الدم الحمراء للغنم أو جزئيات اللاتكس، التى تدمص عليها جزئيات الفيرس، أو الاجسام المضادة لإجراء اختبار التجمع .

٢ - اختبارات الترسيب : Precipitation tests

الغالبية العظمى من الانتيجينات عليها العديد من مناطق الالتحام، وهذا يعنى أن كل جزئ أو جسيمة فيروسية من الممكن أن تتحد مع العديد من جزئيات الاجسام المضادة، وحيث إنه يعتقد أن الاجسام المضادة ثنائية الأوجة أى يحتوى كل منهما على منطقتين، أو على وجهين للالتحام مع الانتيجين المتجانس معه فإنه عند خلط التحضير الفيرس مع المصل المضاد له، يتم الالتقاء بين طرفى التفاعل ويتم الالتحام بينهما؛ أى إنه كل جسيم فيروسى تتحد مع عديد من الاجسام المضادة، وهذه بدورها تلتحم من مكان الالتحام الثانى بانتيجين آخر، وبذلك يتكون راسب يكبر باستمرار حتى يمكن رؤيته .

ويمكن إجراء اختبار الترسيب للكشف عن الفيروسات النباتية بعدة طرق، نذكر منها اختبار الترسيب فى أنابيب Tube precipitation test ، وهى أكثر الاختبارات وأبسطها استعمالاً، وفى هذا الاختبار يتم خلط كميات صغيرة متساوية من الانتيجين والمصل المضاد فى أنابيب صغيرة فى ظروف مناسبة، ثم يراقب تكون الراسب .

وهناك عدة عوامل تؤثر على دقة هذا الاختبار، وأهمها:

تركيز كل من الانتيجين والأجسام المضادة؛ حيث من الممكن أن يمتنع ظهور الراسب نتيجة لزيادة تركيز الانتيجين عن حد معين، وكذا نتيجة لزيادة الأجسام المضادة في المصل المستخدم؛ ولذا فمن الضروري عمل المخلوط من تخفيفات مختلفة لكل منهما؛ حتى يمكن التأكد أن عدم ظهور الراسب لا يرجع إلى زيادة أحد العنصرين.

وبالنسبة للفيروسات والأمصال فإنه يوجد تخفيف لا يمكن للفيروس أو للمصل أن يعطى تفاعلاً عنده، ويطلق عليه بالنسبة للفيروس نقطة التخفيف النهائية *Dilution end point* ، وبالنسبة للمصل *Titre* ، كما أن وجود الأملاح ورقم الأس الأيدروجيني من العوامل التي تؤثر على دقة اختبار الترسيب؛ حيث ظهر من بعض التجارب، التي أجريت على فيروسات عصبية أن التغير في رقم الأس الأيدروجيني pH يؤثر أو يغير من درجة تجمع الجزيئات الفيروسية، الأمر الذي يؤثر بالتالي على سرعة الترسيب، وكذا على التخفيف المناسب لإجراء التفاعل؛ فعلى سبيل المثال وجد أن فيروس *TMV* عند تخفيف ١/١٢٨ يعطى راسباً مرئياً عند خلطه بالمصل المضاد، إذا كان رقم pH ٧.

كما أن وجود الأملاح مهم للغاية لاختبار الترسيب؛ حيث وجد أن وجود الأملاح ضروري لظهور الراسب، ولذا يجري تخفيف المواد الداخلة في التفاعل بمحلول ملحي فسيولوجي، كما أن الحرارة عامل من العوامل المهمة التي تؤثر على اختبار الترسيب؛ ولذا فإن الأنابيب التي تحتوى على الانتيجين والمصل المضاد بعد خلطها جيداً توضع رأسياً في حمام مائى ذى درجة حرارة، يمكن التحكم فيها بواسطة ثرموستات، وتتوقف درجة الحرارة المستخدمة على مدى ثبات الفيروس. بالنسبة للفيروسات النباتية يمكن استخدام درجة حرارة ٥٠ م، أما بالنسبة للفيروسات الأقل ثباتاً فتستخدم درجة حرارة أقل من ذلك ٣٧ م، كما يراعى عند وضع الأنابيب في الحمام المائى أن يكون نصف محتواها مغموراً في الماء، إذ إن ذلك يسرع من الترسيب، كما أنه يسهل من مشاهدة الراسب في المراحل الأولى لتكونه.

وقد ذكر باودن وبيرى *Bawden & Pirie* أن الفيروسات كروية الشكل، تعطى راسباً متماسكاً وحبیبياً بينما الفيروسات ذات الشكل المعصوى تعطى راسباً هشاً ومتجمعاً،

ويمكن للفيروسات العنوية أن تعطى النتيجة نفسها (راسب حبيبي متماسك) إذا ما تم تقصير أو تكسير تلك العنويات، ويجرى ذلك بإجراء عملية تجميد وإسالة لعدة مرات متتالية؛ مما يرفع من كفاءة التفاعل ونجاحه في حالة الفيروسات العنوية أو الحيطية.

ويستخدم اختبار الترسيب في الانابيب، بالإضافة إلى تشخيص الفيروسات النباتية في معايرة كل من الفيروس والمصل المضاد، فعند معايرة الفيروس يوضع $\frac{1}{2}$ نصف مم من الفيروس في سلسلة تخفيفات متضاعفة، ويخلط كل تخفيف من الفيروس مع $\frac{1}{4}$ نصف مم من المصل المضاد ذي تركيز ثابت، والعكس يتم عند معايرة المصل المضاد؛ حيث يتم تخفيف المصل، بينما يظل تخفيف الفيروس ثابتاً. وللحصول على أفضل صورة لاختبار الترسيب، تعمل مخاليط لكل من الانتيجين مع كل تخفيف من المصل المضاد، ثم يسجل الوقت اللازم لظهور الراسب في كل مخلوط، ويمكن التعبير عن هذه النتائج بخطوط كونتور بيانياً، يتضح منها المخاليط التي تظهر رواسبها في الوقت نفسه، كما يتضح منها أيضاً أن نسبة الخلط المثلى لكل تركيز مصل مضاد تكون مختلفة عن تلك الخاصة بالفيروس.

كما يستخدم اختبار الترسيب على نطاق واسع لتقدير تركيز أنتيجين الفيروس في التحضيرات المختلفة أو في العوائل المختلفة وذلك بمعرفة نقط التخفيف النهائية لكل منها، كما سبق أن شرحت في اختبار المعايرة.

كما يستخدم اختبار الترسيب في تعريف الفيروس وتقدير درجة القرابة السيروولوجية لفيروسين أو بين السلالات المختلفة لفيروس ما، حيث تحمل الانتيجينات الفيروسية أعداداً من المواقع المحددة Determinat site فإذا كانت العزلتان عبارة عن فيروسين مختلفين أى إنه لا يوجد بينهما أى اشتراك أو تشابه في المواقع المحددة، فإن المصل المضاد ل أحدهما لا يعطى أى تفاعل مع الآخر. أما إذا كانت العزلتان لهما المواقع المحددة نفسها، فإن المصل المضاد لإحدهما يعطى مع الاخرى. أما إذا كانتا تشتركان في عدد من المجموعات المحددة دون الاخرى، فإن التفاعل يتم بينهما بهذا القدر نفسه من الاشتراك.

وفي سنة ١٩٦٥ قام فان سلوجتيرن van slogtern بإجراء اختبار أسماه اختبار الترسيب

الدقيق Microprecipitin test ، وهو صورة مصغرة لاختبار الترسيب في أنابيب؛ حيث يستخدم أطباق بترى صغيرة، تغلف بمادة الفورمفار أو السليكون Formvar or Silicon أو تستخدم أطباق معدة خصيصاً ذات شبكة من الثقوب غير العميقة، وتوضع نقطة واحدة من كل من المواد المتفاعلة (أنتيجين - أجسام مضادة)، ثم تعطى النقط بسائل البرافين لوقف عملية البخر، وتحضين هذه الأطباق، التي تحتوى على نقط بنسب مختلفة بين الأنتيجين إلى المصل المضاد، ثم يختبر الراسب باستعمال الميكروسكوب، وتعتبر هذه الطريقة أكثر حساسية من اختبار الترسيب في أنابيب، كما أنها تستخدم كميات صغيرة جداً من المواد المتفاعلة.

ومن اختبارات الترسيب أيضاً اختبار الحلقة : Ring interface test

وهو اختبار بسيط حيث يتلاقى الأنتيجين مع الجسم المضاد بواسطة الانتشار، ولإجراء هذا الاختبار يوضع قليل من المصل المضاد في أنبوبة زجاجية ضيقة أو أنبوبة شعرية، وتوضع طبقة من محضّر الفيرس بعناية على القمة . تنتشر جزئيات الفيرس والأجسام المضادة، ويتكون الراسب حينما يتلاقيان بنسب مناسبة، ويتم ذلك خلال دقائق.

٣ - اختبارات الانتشار في الآجار : Gel - diffusion test

وهذا الاختبار يشبه اختبار الحلقة، ويختلف عنه في أن الطبقة السفلى تكون في آجار جل مخفف، وتحتوى عادة على الأنتيجين، وهذا يطلق عليها الانتشار الفردي Single dif- fusion ، وقد وضعه Oudin سنة ١٩٤٦ . وفي هذه الحالة تتكون طبقة من الراسب في الجل (بدلاً من السائل) عندما تتلاقى كميات مناسبة من الأنتيجين والأجسام المضادة . وحدث تعديل لهذا الاختبار، وذلك بوضع المصل المضاد في ثقب من الآجار في طبق بترى، ثم تعمل ثقب في الآجار حوله، وملأها بتحضيرات الأنتيجين، وفي هذه الحالة تتكون حالة من الراسب حول الثقب الأوسط، ويطلق على هذا الاختبار اسم الانتشار الإشعاعي Redial diffusion test ، وأكثر اختبارات الجيل شيوعاً في الاستعمال هو اختبار (أوخترلوني)، والذي يطلق عليه two dimensional double diffusion test ، ويجرى هذا الاختبار

يصبب الآجار الساخن أو محلول أجاروز على شريحة زجاجية أو طبق بترى ويترك ليبرد؛ ليكون طبقة من الجيل، ثم تعمل ثقب بعد ذلك فى الجيل وتملأ بالمواد المتفاعلة (الأنتيجين والاجسام المضادة) وفى هذه الحالة عندما توضع الامصال المضادة المختلفة المناسبة، وتحضير الفيرس فى ثقب متجاورة، تتكون طبقة الراسب عند الزاوية الصحيحة لاقصر خط يصل ما بين الثقبين .

ومن أهم مميزات طريقة الانتشار فى الآجار ما يلى :

١ - يمكن فصل مخاليط الأنتيجينات بواسطة الاجسام المضادة لكل منها، وذلك بناء على معدل انتشار كل منها فى الآجار، أو على أساس معدل هجرة كل منها فى وسط كهربي Immuno electrophoresis ، أو بناء على هاتين الخاصتين مجتمعتين .

٢ - إجراء مقارنة مباشرة بين نوعين مختلفين من الأنتيجينات، وذلك بوضعهما فى ثقبين متجاورين على الطبق نفسه، ومن المعتاد ان يوضع المصل فى الثقب الأول بينما توضع الأنتيجينات فى ثقب محيط بثقب الوسط، وتنتشر الأنتيجينات والاجسام المضادة باتجاه بعضهما خلال الآجار جل، وبعد مضي بعض الوقت تتكون منطقة يلتقى بها شقاً التفاعل بنسب مناسبة لتكوين راسب، وينضم إلى المنطقة المزيد من الأنتيجين والاجسام المضادة مما ينتج عنه بناء خط ترسيب واضح يمكن رؤيته، إلا أن هذه الطريقة لا تستخدم إلا مع الفيروسات التى تنتشر خلال الآجار .

٤ - اختبار ربط العامل المذيب لكرات الدم الحمراء : Complement fixation test

لم ينتشر هذا الاختبار فى الكشف عن الفيروسات النباتية حالياً لصعوبة إجرائه من ناحية، ولوجود بعض المواد فى عصير بعض النباتات تعوق إجراء التفاعل من ناحية أخرى .

وفى هذا الاختبار يكشف عن حدوث التفاعل أو الاتحاد بين الفيرس والاجسام المضادة بطريقة الادلة Indicator method؛ أى بطريقة غير مباشرة لعدم ظهور راسب يمكن رؤيته .

وأساس هذا الاختبار أن المصل الطراز يحتوى على عدة مواد غير متخصصة، يطلق عليها مجتمعة اسم Complement ، ويمكن لهذه المواد أن تتدخل فى اتحاد الأنتيجين مع الاجسام المضادة، فلو حدث هذا التفاعل بين الأنتيجين والاجسام المضادة فى وجود هذه

فيروسات الخنازير

المواد فإنها ترتبط؛ أى لا تصبح حرة فى المصل، ولكنى يمكن التعرف عما إذا كانت هذه المواد ارتبطت أم لا، ويجرى اختبار يطلق عليه اسم الاختبار الدال Indication reaction، الذى يعتمد على وجود الـ Complement، بصورة حرة فإذا ما حقن الأرنب بكرات الدم الحمراء المأخوذة من الغنم فإنه يمكن الحصول على أجسام مضادة لها، ويحتوى هذا المصل على Complement، والذى إذا ما خلط مع كرات الدم الحمراء للغنم يسبب إذابتها ولذا يعتبر هذا الاختبار دليلاً على وجود الـ Complement حراً أو مرتبطاً ومن الممكن إزالة هذا الـ Complement من المصل عن طريق تسخينه عند درجة حرارة ٥٦ م لمدة نصف ساعة. ولذا فإن إجراء اختبار ربط العامل المذيب لكرات الدم الحمراء يتم على مرحلتين: ففى المرحلة الأولى يخلط الانتيجين مع المصل المضاد له بدرجات تخفيف مختلفة، فى وجود العامل المذيب Complement لكرات الدم الحمراء، وتحتفظ هذه المخالط لمدة ساعة عند درجة حرارة ٣٧ م حتى يتم ربط العامل المذيب تماماً.

وفى المرحلة الثانية: يتم الاختبار الدال على ربط العامل المذيب، حيث يضاف إلى الأنابيب كريات دم حمراء مأخوذة من الغنم بعد غسلها، وكذا مصل أرنب بعد تسخينه، ثم يحفظ المخلوط عند درجة حرارة ٣٧ م، ثم تراقب درجة ذوبان كريات الدم الحمراء على فترات مختلفة.

فإذا كان العامل المذيب Complement ارتبط تماماً فلا يحدث إذابة لكرات الدم الحمراء، وهذا معناه أنه قد حدث تفاعل بين الانتيجين والأجسام المضادة، أما إذا ذابت كريات الدم الحمراء وانتشر اللون الأحمر فى أنبوبة الاختبار، فيدل ذلك على أن العامل المذيب لكرات الدم الحمراء لم يرتبط وما زال حراً، وبالتالي يدل على عدم حدوث تفاعل بين الانتيجين والأجسام المضادة.

٥ - اختبار المصل المرتبط بالإنزيم

Enzyme - linked Immuno - Sorbent Assay (ELISA)

وتعتبر هذه الطريقة الآن من أحدث وأدق الطرق السيرولوجية التى تكشف عن الفيروسات فى العينات المحتوية على أقل كمية من الفيروسات، ويمكن أيضاً استخدامها فى التقدير الكمي، وترجع هذه الطريقة إلى الجهود التى قام بها Clark & Adams سنة ١٩٧٧

للكشف الدقيق والتقدير الكمي للفيروسات النباتية سيولوجيا.

وتعتمد هذه الطريقة على القياس اللوني الناتج من تفاعل الإنزيم المرتبط بالمصل المضاد المتخصص للفيروس، وعند تفاعله مع الفيروس الخاص به يعطى اللون الاصفر، وهذا اللون يرى بالعين المجردة، وكذا يمكن قياسه بجهاز القياس الضوئي على موجة طولها ٤٥ نانوميتر.

وفى هذه الطريقة يجهز المصل المضاد للفيروس فى صورة جاما جلوبيولين نقى، وكذا يرتبط جزء من المصل النقى بإنزيم Alkaline Phosphatase، والذي يتفاعل بعد ذلك مع مادته المتخصصة p - Nitrophenyl phosphate، ويجرى هذا التفاعل فى ال-microtiter plate، وهى تحتوى على ٩٦ أو ١٠٠ نقرة سطحها من مادة البولى سترين، وتستهمل مرة واحدة فقط.

ولقد ظهر فى السنوات الأخيرة عديد من التعديلات والتطوير فى الطريقة الأساسية بهدف جعل الاختبار مناسباً لأغراض معينة، وهذه الطريقة مفيدة جداً، حينما يكون مطلوباً إجراء عدد كبير من الاختبارات إذ إنها على درجة عالية من الحساسية حيث يمكنها الكشف عن التركيزات القليلة والتى تقل عن ١ إلى ١٠ ميكروجرام، كما أن هذه الطريقة اقتصادية فى استخدام الأمصال.

وهناك الآن طريقتان أساسيتان لإجراء الاختبار، هما:

الطريقة المباشرة Direct وقد شاع استخدام الطريقة المباشرة إلا أنه يحدد استخدامها عاملاً أساسياً أولهما أنها تكون شديدة التخصص للسلسلة، وهذا يعتبر مفيداً للتمييز بين سلالات الفيروس الواحد، ولكنها تقلل من قيمتها عند إجراء التشخيص الروتيني، إذ يمكن لبعض السلالات ألا تظهر فى الاختبار، والعامل الثانى هو احتياجها إلى تحضير مركبات مختلفة من الإنزيم المرتبط والجسام المضادة لكل فيروس يراد اختباره.

والطريقة غير المباشرة أى طريقة ساندويتش الأجسام المضادة المزدوج فإن الإنزيم المستخدم فى الخطوة الأخيرة للكشف يكون مرتبطاً بجسم مضاد، لانتجلوبيولين الدجاج المضاد للارانب يمكن استخدامه لربط الإنزيم، وعلى هذا الأساس فإن تحضيراً واحداً

للانتجوبيولين يمكن استخدامه فى عدد كبير من الفيروسات، التى حضرت أجسامها المضادة فى الأرناب وبالإضافة إلى ذلك.. فإن الطريقة غير المباشرة يمكنها الكشف عن عدد كبير من الفيروسات المتقاربة باستخدام مصبل واحد.

كما ظهر فى السنوات الأخيرة اختبار الأليزا المكرر Repeat - ELISA وتعتبر هذه الطريقة أحدث تطوير لطريقة الأليزا حيث إنه بعد قراءة اللون للمرة الأولى، تحضن الأطباق لمدة ساعة، فى وجود محلول الإزالة لإزالة الجسم المضاد الأول، والثانى المرتبط بالإنزيم دون إزالة الانتيجين من آثار أطباق الأليزا، ثم الغسيل حوالى عشر مرات بالماء المقطر، ثم بال TTBS، وإعادة وضع التخفيفات نفسها من المصل المضاد للفيروس أو السيرم المعادى ثم تكرار مراحل الإزالة السابقة نفسها.

٦ - طريقة : Immuno Dot Blot

وفى هذه الطريقة تستخدم أغشية النيتروسليلولوز كبيئة صلبة لإجراء الاختبار. فى بعض الحالات فإن الفيروس الموجود فى العصير النباتى يتم حجزه على الغشاء كخطوة أولى ولإظهار اللون النهائى، يضاف الإنزيم المرتبط بالأجسام المضادة Ig G ، الذى يتحول إلى مادة غير ذائبة ملونة، ويمكن قياس كثافة اللون إما بالعين أو بجهاز قياس الكثافة الانعكاسى Reflectance densitometer.

ومن أهم مميزات هذه الطريقة Dot Blot : السرعة والتكلفة البسيطة وقلّة كميات المواد المستخدمة فى التفاعل، وهذا التفاعل يناسب الاختبارات المعملية؛ حيث تكون بساطة الاختبار وقلّة التكلفة مطلوبة.

٧ - طريقة Western Blotting :

وتعتمد هذه الطريقة على استخدام قدرة الأليكتروفورييس على فصل وتحليل البروتين فى الآجار فى الوقت نفسه، مع كفاءة فى تعريف وتقدير البروتين الفيروسي. والمراحل الأساسية للطريقة تنحصر فى فصل البروتين الفيروسي باستخدام دوديسيل الصوديوم سلفات وبولى اكريلاميد جيل اليكتروفورييس SDS - PAGE، ثم النقل الكهربى للبروتين من الجيل إلى

أغشية النيتروسليلولوز، ثم قص أغشية النيتروسلولوز المحتوية على بروتين الفيرس، ثم بحقن الشرائط بعد ذلك مع المصل المضاد للفيرس، ثم الغسيل ثم التحضين فى وجود الجسم المضاد الثانى المرتبط بإنزيم الفوسفاتيز، ثم الغسيل والتحضين فى وجود المظهر لإظهار اللون.

ومن أهم خصائص هذه الطريقة: أنه يمكن عن طريقها تعريف الفيرس عن طريق خاصيتين مستقلتين من خصائص الكابسيد البروتينى، هما: الوزن الجزيئى، والتخصص السيرولوجى.

٨ - الميكروسكوب الإلكتروني المتخصص للتحليل السيرولوجى: SSEM

ذكر ماثيوز (١٩٩٤) أن هذه الطريقة تعتمد فى التشخيص على خاصيتين من خصائص الفيرس، هما: قدرة الفيرس على التفاعل مع المصل المضاد الخاص به، وكذا الشكل المورفولوجى لجزيئات الفيرس.

وفى هذه الطريقة تُغطى الغشاء المغلف لشباك العينات الخاصة بالميكروسكوب الإلكتروني بالمصل المضاد الخاص بالفيرس المراد اختياره، ثم توضع الشبكات طافية فوق المعلق الفيرسى، وفى هذه الأثناء تلتصق أعداد كبيرة من جزيئات الفيرس، ويمكن مشاهدتها بالميكروسكوب الإلكتروني بطريقة الصبغ السالب.

وفى تعديل للطريقة السابقة، فإنه بعد التصاق الجسيمات الفيرسية على شبكة العينة تتم تغطيتها بالمصل المضاد المتخصص للفيرس، وهذا يؤدي إلى إحاطة جسيمات الفيرس بهالة من جزيئات الاميونوجلوبولين، والتي يمكن رؤيتها باستخدام طريقة الصبغ السالب بالميكروسكوب الإلكتروني للاتدماج المتخصص بين فيروس ما والاميونوجلوبولين.

ومن أهم مميزات هذه الطريقة أن النتائج تكون واضحة؛ فيتم التشخيص بالجسيمات الفيروسية ذات الشكل المورفولوجى المحدد، ولهذا فإنه من النادر أن تعطى هذه الطريقة نتائج إيجابية كاذبة. كما أن دقة هذه الطريقة تقارب طريقة BLISA، ومن الممكن أن تكون دقتها أكثر لآلاف مرة من استخدام الميكروسكوب الإلكتروني العادى.

كما أن تغطية الأغشية المطبقة للشبكة بالأجسام المضادة تقلل جداً من الجسيمات التي تنتمي للعائل النباتي من أن تعلق بها . كما أن هذه الطريقة تسمح باستخدام الامصال كما هي وحتى الامصال ذات التركيز المنخفض، كما أنها لا تستهلك كمية كبيرة من هذه الامصال أو الانتيجين .

كما أن هذه الطريقة تسمح بنقل الشباك المعدة إلى معامل أخرى لمعاملتها بالمستخلص الفيرس، ثم إعادة استخدامها مرة أخرى لاستكمال بقية خطوات الفحص .

إلا أنه توجد بعض العيوب التي تعترض طريق شيوع استخدام هذه الطريقة، ومنها أنها لا تمكن من فحص بعض الجزيئات التي تقل في حجمها كثيراً عن أن تظهر في الميكروسكوب الإلكتروني، مثل : الوحدات البنائية للكايسيد البروتيني . كما أن هذه الطريقة مكلفة، وذلك لارتفاع سعر الميكروسكوب الإلكتروني وأدواته والمواد المستخدمة، كما أن الميكروسكوب يحتاج إلى خبرة وكفاءة خاصة في تشغيله، مما يجعل هذه الطريقة لا يمكن أن تنافس طريقة الـ ELISA في الاستخدام على نطاق واسع، ولكن مع ذلك يظل الميكروسكوب الإلكتروني ذا قيمة كبرى في تعريف الفيروسات المجهولة، وفي حالة الحاجة إلى عدد قليل من الاختبارات التشخيصية .

الباب الثامن

طرق انتقال فيروسات النبات

Methods of Plant Viruses Transmission

طرق انتقال فيروسات النبات

METHODS OF PLANT VIRUSES TRANSMISSION

تختلف طرق ووسائل انتشار الفيروسات اختلافاً كبيراً، فغشاء الخلايا السليولوزي في النباتات المزهرة جعلها لا تصلح لأن تكون وسطاً يتردد عليه الفيروس ويدخل بداخلها. ولكي ينتقل الفيروس إلى العائل، يجب أن يصل إلى داخل خلايا هذا العائل لكي يتكاثر بداخلها. وبعض الفيروسات لا يتكاثر إلا في خلايا معينة من العائل، وفي هذه الحالة يجب أن تدخل تلك الفيروسات في هذه الخلايا حتى يمكنها أن تتكاثر. وإصابة الفيروس للنباتات المزهرة دائماً ما تظهر على أنها إصابة عن طريق الجروح wounds، فمن طريق تلف في جدار الخلية يدخل الفيروس إلى البروتوبلازم الحى للخلية ويتكاثر فيه.

وربما يمكن نقل الفيروسات النباتية من النباتات المصابة إلى النباتات غير المصابة بعدة طرق، مثل: التطعيم والطرق الميكانيكية والحشرات وغيرها، فالطرق الثلاث السابقة قد نجحت مع بعض الفيروسات، ولكن واحدة أو اثنتين منها نجحت فقط مع البعض الآخر. فمثلاً فيروس Y البطاطس Potato virus Y وموزيك الحيار CMV ربما يمكن نقلها بالطرق الثلاث السابقة. وفيروس X البطاطس (PXV) والتقرم الشجيري في الطماطم Tomato bushy stunt يمكن نقلهما بنجاح بواسطة كل من طريقة التطعيم والعدوى الميكانيكية، ولكنه حتى الآن فإن هذه الفيروسات لم يمكن نقلها بالحشرات. كما أن مرض التفاف أوراق البطاطس Potato leaf roll وبعض الفيروسات الأخرى أمكن نقلها بالتطعيم والحشرات ولم يمكن نقلها بالطرق الميكانيكية. وموزيك التفاح Apple mosaic وتقرم الخوخ Peach rosette وغيرها لم ينجح نقلها حتى الآن إلا بطريقة التطعيم.

ومن المعتقد أن الفيروسات التي تمكن نقلها بالتطعيم فقط حتى الآن، لها حشرات ناقلة لم تكتشف بعد، فمثلاً مرض *Abutilon variegation* معروف من أكثر من ٧٠ سنة أنه ينتقل بالتطعيم، ولم تكتشف الحشرات الناقلة له *Bemisia tabaci* إلا حديثاً بواسطة

و بعض الفيروسات يمكن نقلها بإحداث العدوى
لبعض العوائل وليست كل العوائل . وهذا يؤدي إلى سؤال لماذا تفشل بعض حالات العدوى
الميكانيكية، وهل هذا الفشل نتيجة لخواص الفيروس، أو بسبب صفة موروثية في العائل
النباتي الذي يوجد به الفيروس .

وعلى العموم يمكن تلخيص الطرق التي تنتقل بها فيروسات النبات في الآتي :

١ - الانتقال الميكانيكي : Mechanical transmission

٢ - الانتقال عن طريق التكاثر الخضرى والتطعيم : Transmission by vegetative
propagation and grafting

٣ - الانتقال بواسطة الحامل : Transmssion by dodder

٤ - الانتقال عن طريق البذور : Seed transmission

٥ - الانتقال عن طريق التربة : Soil transmission

٦ - الانتقال بواسطة الحشرات : Transmission by insects

٧ - الانتقال بواسطة الحلم والعناكب : Transmission by mites

٨ - الانتقال بواسطة حبوب اللقاح : Pollen transmission of plant viruses

أولاً : الانتقال الميكانيكي : Mechanical transmission

وينتقل بهذه الطرق الميكانيكية عصير النبات الحامل للفيروس إلى خلايا العائل السليم،
عن طريق إحداث جروح wounds في تلك الخلايا . وتعتبر طرق النقل الميكانيكي أكثر إفادة
في التجارب، وذات قيمة متوسطة في الطبيعة . وتعزى معظم معلوماتنا الأساسية في أمراض
النبات الفيروسية إلى طرق النقل الميكانيكي، وتوضيح ظاهرة العدوى Infectivity كما
ذكرها ماير Mayer (١٨٨٦)، والقدرة على المرور خلال الراشحات Filterability كما
ذكرها إيفانوفسكى Iwanowski (١٨٩٢)، وفترة الكمون المؤقت Latency كما ذكرها
جونسون Johnson (١٩٢٥)، وتقدير الفيروس بواسطة تقدير العدوى الموضعية Local

lesion assay كما ذكره هولمز Holmes (١٩٢٩) والمناعة المكتسبة - Acquired immunity ty كما ذكرها ونجار Wingard (١٩٢٨) وقابلية بلورات الفيروس على إحداث العدوى كما وجدها ستانلي Stanley (١٩٣٥)، وظاهرة الطفرات Mutability كما ذكرها جينسين Jensen (١٩٣٦)، وقدرة الحمض النووي Nucleic acid للفيروس على إحداث العدوى كما وجدها جيرر، تشيرام Gierer & Schramm (١٩٥٦) وقدرة إعادة بناء الفيروس re-constitution كما ذكرها فرانكل كونرات، سنجر (١٩٥٩) - Fraenkel-Conrat & Sing-er، وكذلك قدرة تكاثر البكتيريوفاج Bacteriophage في النبات كما ذكرها ساندر Sander (١٩٦٤)، وكل هذه المعلومات جميعها تعتمد على طرق النقل الميكانيكي.

طريقة هولمز، أى طريقة تكون النقاط الموضوعية على عوائل معينة عند إصابتها بالفيروس، علاوة على أنها تساعد على الكشف عن وجود الفيروس وقياس مدى قدرته على الإصابة infectivity، وقياس كفاءة اللقاح، ومدى إصابة العائل، فقد امتد استخدامها إلى فيروسات أخرى، وإلى عوائل أخرى وقدمت عدة تحسينات، والإصابة الموضوعية - Local lesions ربما تكون صورة اصفرار Chlorotic، أو موت الخلايا وربما تنمو هذه البقع (النقط) أو تبقى دون زيادة في الحجم بعد تكوينها، وقد تتكون أو لا تتكون إصابة جهازية منها، فيما بعد. وربما تتكون نقط موضوعية في مكان الوخز بالناقلات. ويرى البعض أنه يمكن اتخاذها كدليل على معدل انتقال الفيروس بواسطة الناقلات المختلفة.

وربما يمكن ملاحظة النقاط الموضوعية بالعين المجردة في وقت قصير مثل ١٨ ساعة في حالة فيروس موزايك الخيار CMV على أوراق اللوبيا، وفيروس TNV على اللوبيا و TMV على الفاصوليا تحت الظروف المناسبة؛ حيث إن نباتات الفاصوليا واللوبيا تتمكن من إنتاج ورقتين فلتيتين ويمكن إحداث العدوى عليها بعد ١٠ أيام من الزراعة، وهى عوائل ممتازة في تقدير النقاط الموضوعية، واستخدام هذين العائلين يمكن اكتشاف وجود كميات قليلة من الفيروس عما لو استخدمت الحشرات أو الميكروسكوب الإلكتروني، أو باستخدام امتصاص الأشعة فوق البنفسجية U.V. absorption، أو أى طريقة معروفة أخرى.

وربما يعطى الفيروس نفسه على العائل نفسه أعراض نقط موضوعية تحت ظروف بيئية

فيروسات النباتات

معينة وأعراض جهازية في ظروف أخرى. أو ربما ينتج أعراض نقط موضعية، ثم تتحول إلى إصابة جهازية. وربما تسبب سلالة فيروس معينة أعراض نقط موضعية في عائل، بينما لا تسبب سلالة أخرى تلك الأعراض. وعلى الرغم من ذلك فالإصابة الفيروسية التي تعطى أعراضاً ذات نقط موضعية لا تتحول عموماً إلى إصابة جهازية، والإصابة الجهازية لا تبدأ كنقط موضعية عادة.

وتغطي الأوراق والأجزاء النباتية الأخرى والتي يدخل الفيروس خلالها بالكيوتيكول Cuticle، ويوجد أسفل الكيوتيكول جدار خلوي صلب Rigid cell wall وغير معروف إلى أي حد يجب كسر كل من الكيوتيكول وجدار الخلية. ويرى بعض العلماء أن الفيروس يجب أن يدخل مباشرة إلى الفجوة الخلوية Vacuole، على الرغم من معدل النقل المنخفض للفيروس (حوالي ١٠٪)، عندما يدخل كمية كبيرة من جزيئات (جسيمات) الفيروس في فجوة الخلية مكان الإصابة Site of infection، ولو أن الجروح تعتبر ضرورية للعدوى إلا أنها تلتئم بسرعة، وأن اللقاح inoculum الذى يوضع بعد إحداث الجروح يكون دائماً أقل عما لو استخدم اللقاح والجرح معاً عند إحداث العدوى. وربما يبقى مكان الإصابة قابلاً للإصابة لفترة من الزمن تحت ظروف معينة.

وننقسم هذه الطرق إلى طرق نقل صناعية inoculation وطرق نقل طبيعية:

أ - طرق طبيعية:

فمثلاً فيروس موزايك الدخان TMV ينتقل ببساطة من النباتات المصابة إلى النباتات السليمة؛ نتيجة لتلف ناتج عن إجراء بعض العمليات الزراعية المختلفة كالعزيق والشتل ومرور العمال بين النباتات في المزرعة. وفي أثناء القيام بمثل هذه العمليات يقع العصير من الخلايا المجروحة للنباتات المصابة على أيدي أو ملابس العمال أو الأدوات، التي يستعملونها، والتي إذا ما لامست نباتات أخرى سليمة، سببت لها جروحاً ونقلت لها العدوى.

وينتقل طبيعياً نتيجة جرح النباتات نتيجة الاحتكاك كثير من الفيروسات، مثل: فيروس موزايك الدخان TMV وموزايك الخيار CMV وفيروس X البطاطس PVX وبعض الفيروسات الأخرى.

ب - طرق نقل العدوى صناعياً :

وفى هذه الطرق تعمل جروح صناعية دقيقة فى خلايا العائل وخاصة الأوراق، حتى يمكن لعصير النبات المصاب والحامل للفيروس الدخول لتلك الخلايا وإحداث العدوى، ويجب أن تكون الجروح دقيقة جداً حتى لا تموت الخلايا المجروحة؛ مما يؤدي إلى عدم حدوث العدوى، وتستخدم عدة مواد لإحداث تلك الجروح مثل الرمل الناعم جداً والفحم ومسحوق الصنفرة Carborandum وكذلك بالملورات الـ Celite. وترش هذه المواد المستخدمة لإحداث الجروح، وتسمى abrasives على سطح الورقة، وعادة ما يلى ذلك حقن النبات بواسطة دهن سطح الورقة بلطف بقطعة من القطن أو الشاش مبللة بعصير نبات مصاب أو باستخدام Q-tips وغيرها.

وحيث إن عديداً من الفيروسات النباتية يمكن إحداث العدوى بها صناعياً بنقل عصير نبات مصاب إلى جروح فى نبات سليم وقابل للإصابة، فالسؤال الذى يمكن أن يكون فى الاعتبار هو : لماذا لم يمكن نقل جميع الفيروسات؟ وتوجد ثلاثة أسباب قد تفسر ذلك، وهى:

١ - قد تكون خاصية بعض الفيروسات والتي تمنع النقل الميكانيكى، حيث قد لا يقدر على تحمل التغير الحادث عن طحن وتكسير خلايا عائلها.

٢ - كما أن فشل النقل الميكانيكى ربما يكون نتيجة لوجود تركيز منخفض (واطئ) من الفيروس أى أدنى من أقل تركيز لازم لإحداث الإصابة؛ حيث من المعروف أن بعض الفيروسات والتي لها أكثر من عائل نباتى، يكون تركيز الفيروس عالياً فى بعض النباتات عن غيرها. فمثلاً فيروس Dandelion yellows mosaic virus لا يمكن نقله من نبات Dandelion مصاب إلى نبات الدانديليون Dandelion سليم، ولكن يمكن نقله من الدانديليون إلى الخس ثم من الخس إلى الدانديليون، ويمكن نقله من الخس المصاب إلى السليم.

وقد وجد Kassanis عام ١٩٤٧ أن الخس يحتوى على تركيز عالٍ من هذا الفيروس عما يحتويه الدانديليون.

٣ - خاصية العائل النباتي نفسه، والتي ربما تمنع الإصابة، ويمكن للعائل النباتي أن يؤثر على إحداث العدوى، حيث إن عصيره ربما يحتوى على مواد، إما أن تمنع الإصابة *Inhibit infection* أو تثبط الفيروس *Inactivate the virus* فمثلاً فيروس موزيك الخيار *CMV* يمكن أن يصيب عديد من النبات يحتوى على مواد، يبدو أن لها تأثيراً على الفيروس وإحداث الإصابة، وقد ذكر سيل وزملاؤه *Sill et al* عام ١٩٥٢ أن العصير الخلوى لاوراق وسيقان نبات الخيار يحتوى على مواد يبدو أنها مثبطة لفيروس موزيك الخيار، ويبدو أن هذه المواد المثبطة إما غائبة تماماً أو موجودة بتركيزات منخفضة جداً فى عصير تويج أزهار الخيار *Flower corolla*. وقد وجد أن حقن أوراق اللوبيا بالعصير المأخوذ من بتلات أزهار الخيار المصابة يعطى عدداً من النقاط الموضعية *Local lesions* زيادة كبيرة عن نظيرتها المتكونة عند أخذ العصير من أجزاء نبات الخيار المصابة الأخرى. والفيروسات التى تصيب نباتات الفصيلة الوردية *Rosaceous plants* عادة لايمكن نقلها ميكانيكياً، أو تنقل بصعوبة بالغة، وذلك عند استخدام الحقن بالعصير إلى نبات الورد السليم. وعلى الرغم من ذلك فإن استخدام الحقن بالعصير *Sap inoculation* كان ناجحاً فى حالات الأنواع النباتية الأخرى. فمثلاً فيروس التبقع الحلقي فى الكريز *Sour cherry ringspot virus*، يمكن نقله إلى بادرات الخيار. ولم يعرف السبب فى صعوبة نقل الفيروس من نباتات الفصيلة الوردية بطريقة الحقن للعصير.

وفى حالة الشليك.. فإن الأوراق تحتوى على كمية كافية من التانين *tannin* تكفى لتثبيط فيروس موزيك الدخان *TMV*، وتدل على أن فشل النقل بالحقن بالعصير يعزى إلى خاصية العائل، وليس إلى الفيروس.

وفى حالة موزيك البطاطا *Sweet potato mosaic* فإن الحقن بالعصير يكون ناجحاً فقط، عندما تستخدم عصير من جذور ثمرية *Fleshy root* وليست من أوراق أو سيقان النبات المصاب. ويبدو أن العصير المأخوذ من صحن ودهك أوراق أو سيقان البطاطا يحتوى على مادة تثبط فيروس موزيك البطاطا.

ولم يعرف تماماً الاحتياجات اللازمة لحدوث الإصابة الفيروسية بطريقة الحقن بالعصير

Sap inoculation فيلزم إحداث جروح للخلايا فى منطقة الحقن بالعصير، ويلاحظ - كما سبق القول - أن تلك الجروح لا تسبب موت الخلايا؛ حيث إن موت الخلايا يمنع إحداث الإصابة لأن الفيروس طفيل إجبارى obligate parasite، ولا يمكنه التكاثـر بالبقاء إلا فى الخلايا الحية.

وهناك عوامل كثيرة تؤثر على نسبة نجاح العدوى الصناعية، منها:

١ - وجد أن تعريض النباتات للظلام لمدة ٢٤-٤٨ ساعة، قبل التلقيح يزيد من نسبة العدوى.

٢ - رش الأوراق قبل التلقيح مباشرة يقلل من نسبة العدوى.

٣ - غسيل الأوراق بالماء بعد التلقيح مباشرة وجعل الأوراق رطبة مدة طويلة يزيد نسبة العدوى.

٤ - وجد أن بعض الفيروسات تزداد نسبة العدوى بها فى حالة وضع النباتات قبل التلقيح على درجة حرارة مرتفعة نسبياً.

٥ - المواد المثبطة Inhibitor بالعصير المستخلص من بعض النباتات تكون حاملة لمواد مثبطة للفيروسات، ومقاومتها بمواد معينة تساعد على زيادة النقل الميكانيكى.

٦ - المواد الخادشة: Abrasives - أثبتت التجارب أن استعمال مواد خادشة مثل الرمل الناعم والفحم، celite والكاربونندم (٤٠٠-٦٠٠ mesh) فى عملية التلقيح الميكانيكى قد زاد من كفاءة العملية زيادة كبيرة، قد تصل إلى حوالى ١٥٠ ضعفاً.

٧ - إضافة محلول منظم فوسفاتى لعصير النبات، أو إضافة المحلول المنظم بعد التلقيح مباشرة يزيد نسبة العدوى لبعض الفيروسات.

٨ - تختلف نسبة تركيز الفيروس فى الأجزاء المختلفة التى بها تركيز عالٍ من الفيروس.

٩ - وعمر الفيروس فى العائل الذى يستخدم كمصدر للعدوى، له دخل كبير فى نسبة تركيز الفيروس، حيث نجد أن تركيز الفيروس يزداد فى العائل المصاب لعدة أيام أو أسابيع، ثم ينخفض.

١٠ - قابلية العائل للإصابة.

١١ - قابلية الخلايا للإصابة. وقد وجدت أدلة بأن الخلايا تختلف فى قابليتها للإصابة بالفيروسات، وأن الظروف الملائمة للإصابة لفيروس ما ليس من الضروري أن تلائم غيره. وقد ذكر بودن أن نبات الدخان البرى *N. glutionsa* عندما يكون له ٨-١٠ أوراق، وإذا لقحت نصف الأوراق المتقابلة بالتتابع بفيروس موزايك الدخان TMV وفيروس التقزم الشجيرة فى الطماطم Tomato bushy stunt virus، فإن فيروس TMV سينتج نقطاً محلية (موضعية) Local lesions على كل الأوراق، ولو أن معظمها سينتج على الأوراق الوسطى والسفلى. وبالعكس من ذلك فإن فيروس TBSV سوف لا يكون نقطاً محلية على الأوراق السفلى، وعدداً قليلاً على الأوراق الوسطى، ويكون معظمها على الأوراق العليا. وحيث إن الضرر Injuries الناتج من التلقيح متشابه فى كل منهما، فيبدو أن الجروح نفسها ليست من الضروري أن تؤكد الإصابة، ولكن الخلايا التى حدث بها الضرر يلزم أن تكون فى حالة استقبال recep-tive state، وأن هذه الحالة تختلف مع الفيروسات المختلفة.

١٢ - عمر النبات: حيث إن قابلية النبات للإصابة تتأثر بعمره. فمثلاً نبات الفاصوليا وعمرها حوالى ١٠ أيام تحدث بها العدوى عند تلقيحها من Tobacco necrosis أى نيكروزيس الدخان وبعض الفيروسات الأخرى، ولكن بعد ٣-٤ أيام بعد ذلك لا تحدث أمة عدوى إطلاقاً.

ثانياً : الانتقال عن طريق التكاثر الخضري والتطعيم:

Transmission by Vegetative propagation and grafting

التكاثر الخضري هو إكثار النباتات باستعمال أجزاء النبات ما عدا البذور، ولذا فإن التكاثر الخضري يشمل: التركيب Grafting، التطعيم Buddings والعقل Cutting والترقيد Layering والمدادات Ranners والدرنات Tubers والكورومات Cormes والابصال والريزومات Rhisomes والفسائل offshoots والسرطانات suckers.

فيروسات النبات

إن النباتات التي تكون فيها الفيروسات مهمة اقتصادياً، هي التي تتمكن الفيروسات من إحداث إصابة جهازية بها Systemically وذلك كنتيجة لإصابة نقطة واحدة فقط، هي مكان إحداث العدوى، ثم تنتشر بعد ذلك إلى معظم أو كل الأجزاء الخضرية في النبات. وحيث إن النباتات ليس لها القدرة على تكوين مواد مضادة Antibody-forming mechanism عند إصابتها بالفيروسات، كالذي يوجد في الحيوانات، ولذلك فالنباتات التي تصاب جهازياً بالفيروسات عادة تعطى مصدراً مستمراً للفيروس، طالما مازال الجزء الخضرى النباتي حياً.

ويجب أن نتذكر أنه ليست كل النباتات متساوية في قدرتها في إيجاد ظروف ملائمة لبقاء الفيروسات، فالعائل النباتي الذي يصاب بفيروس ما، ويعطى إصابة محلية فقط - local، أو تموت الخلايا المصابة بسرعة بعد العدوى، فإنها تعطى للفيروس فترة قصيرة لتكاثره. بالمقارنة مع النباتات التي تصاب جهازياً Systemically وتكاثر خضرياً، فإنها تشكل مصدراً دائماً للفيروس سنة بعد أخرى لتكاثره داخل هذا العائل نفسه، وحتى دون أية تعرض لنقل الفيروس من عائل آخر. وعادة مثل هذه النباتات المعمرة أو التي تتكاثر خضرياً تكون - في الواقع - المصدر الرئيسي للفيروسات إلى النباتات الحولية. ويجب أن نبين مدى أهمية النباتات المعمرة، والتي تتكاثر خضرياً ليس فقط في حفظ وتكاثر الفيروسات Perpetuating viruses، ولكن أيضاً في مساعدتها على الانتشار، فأي طريقة تستخدم فيها: درنات - أبصال - كورمات - مدادات - سرطانات - أو عقل جذرية... الخ، فإن احتمال إنتاج خليفة منها حاملة للفيروس يكون عالياً جداً، إذا كان النبات الأب يحتوى على فيروس.

ومن الفيروسات التي تنتقل عند تكاثر النباتات المصابة خضرياً مثل فيروسات البطاطس مثل فيروس X البطاطس، وفيروس مرض تجعد أوراق البطاطس. وتخزن الفيروسات التي تصيب نباتات العائلة الزنبقية في الأبصال كفيروس موزايك البصل، كما يعيش الفيروس أيضاً في الثمار الجذرية مثل فيروس موزايك واصفرار البنجر، ويشذ عن ذلك مرض اصفرار الاستر الذي يصيب البطاطس، ولكنه لا ينتقل عن طريق الدرنات.

وانتقال الفيروس أيضاً بتطعيم النباتات السليمة بأجزاء من نباتات تحمل الفيروس،

وتعتبر طريقة التطعيم الطريقة الوحيدة فى نقل الفيروسات، التى ثبت نجاحها عملياً مع جميع الفيروسات. وفى عملية التطعيم *grafting* يلزم وجود توافق *compatibility* بين الاصل والطعم. وعندما يحدث اتحاد والتحام بين الاصل والطعم، فإن نجاح انتقال الفيروسات يتوقف على قدرة الفيروس على الحركة خلال الانسجة الخضرية.

وعادة يعطى الانتقال بالتطعيم نتائج مختلفة عن طرق النقل الميكانيكية، أو بواسطة الحشرات ويمكن تفسير ذلك بسببين، والسبب الأول والاكثر قبولاً، هو أن النباتات التى ينقل المرض منها بالتطعيم تكون مصابة بأكثر من فيروس واحد، وكلها تنقل بطريقة التطعيم، بينما قد لا تنقل كلها بالطريقة الأخرى. والسبب الثانى أن النقل بالتطعيم غالباً ما يؤدى إلى إصابة جهازية *systemic* فى العائل، الذى يعطى فقط عرضاً كنقط (محلية) *Local lesions* عندما يلمح بالطرق الميكانيكية. فعندما يطعم نبات الدخان البرى *N.glutiosa* مع طعم مأخوذ من نبات الدخان العادى أو الطماطم المصابة بفيروس موزايك الدخان، يحدث لنبات الدخان البرى الموت، مع ظهور مرض جهازى مسبباً موت القمة وتحللها، بينما فى حالة العدوى بالطرق الميكانيكية يحدث فقط تكوين اعراض النقط الميتة، بالقرب من مكان إحداث العدوى بالعصير المحتوى على الفيروس. ويحدث مثل هذا التأثير فقط عندما يطعم عائل حساس *hypersensitive host* مع عائل آخر يتحمل *tolerant* للفيروس.

ولو أن انتقال الفيروسات باستخدام طريقة التطعيم من الطرق التى تأخذ وقتاً ومجهوداً كبيراً، إلا أنها من الطرق التى تستخدم خاصة مع الفيروسات، التى لا يعرف طريقة أخرى لنقلها.

ثالثاً : الانتقال بواسطة الحامول : *Transmission by dodder*

يمكن للفيروسات أن تنتقل من نبات مصاب إلى سليم بالمرور، خلال انسجة النباتات المتطفلة التى توصلها ببعضها. وقد استخدم فى ذلك الحامول *Cuscuta spp* لنقل كثير من الامراض وخصوصاً للأمراض، التى لم تعرف بعد طرق انتقالها، ولا يمكن استخدام طرق التطعيم لعدم توافق نوع النبات المصاب ونوع النبات السليم، الذى يراد نقل الفيروس إليه.

واستخدام الحامول كطريقة تطعيم غير مباشرة مفيد في كثير من الأبحاث الفيروسية. ولقد استعمل الحامول Dodder لهذا الغرض وتتلخص الطريقة في تغذية النبات المتطفل أولاً على نباتات مصابة، ثم السماح بعد ذلك لأفرع الحامول بأن تلتصق بالنباتات السليمة. ولقد وجد Bennett عام ١٩٤١ أن حامول *Cuscuta californica* ينقل فيروس موزايك الخيار CMV، وأن حامول *C. subinclusa* ينقل فيروس تجعد قمة بنجر السكر SBCTV. وأنه لمن المعروف أيضاً أن الحامول *C. campestris* ينقل مختلف فيروسات الحسليات stone fruit viruses، حيث إن هذا الحامول مثلاً له القدرة على التطفل على أكثر من ١٠٠ نوع نباتي مختلف.

هناك حالات تفضل فيها الحشرات الناقلة للفيروس التغذية على الحامول، بدلاً من النبات العائل. ومن الأمثلة الدالة على ذلك تغذية حشرات النطاطات *Circulifer tenellus* الناقلة لفيروس تجعد قمة بنجر السكر Sugar-beet curly top virus على الحامول المتطفل على نبات الدخان البري *N. glutinosa* المصاب بمرض تجعد القمة، كما ذكر العالم Giddi- (١٩٤٧) أن الحامول يستعمل أيضاً في فصل الفيروسات المختلفة في نبات واحد عن بعضها البعض، كما هو الحال في مرض White clover mosaic، الذي يتسبب عن فيروسين: أحدهما Pea mottle virus الذي يمكن نقله بواسطة الحامول *Cuscuta cam-* *pestris*، والآخر Pea wilt virus الذي لا ينقل بواسطة الحامول كما ذكر العالم Johnson (١٩٤٢).

وقد ذكرت قائمة تضم أكثر من ٥٠٠ نوع نباتي، تنتمي إلى ٧٨ عائلة نباتية كعوائل لأكثر من عشرة عوائل من الحامول، وبعض الفيروسات المعروفة بأنها تنتقل بواسطة نوع واحد أو أكثر من أنواع الحامول، هي:

١ - التنقزم الأصفر في الشعير Barley yellow dwarf.

٢ - تجعد القمة في البنجر Beet curly top.

٣ - اصفرار البنجر Beet yellows.

٤ - تشقق قلف الموالح (فيروس) Citrus exocortis virorid.

- ٥ - قوباء الموالح *Citrus psorosis*.
 - ٦ - التدهور السريع فى الموالح *Citrus tristeza*.
 - ٧ - موزايك الخيار *Cucumber mosaic*.
 - ٨ - موزايك الحامول الكامن *Dodder Latent mosaic*.
 - ٩ - تبرقش البسلة *Pea mottle*.
 - ١٠ - تورد الخوخ *Peach rosette*.
 - ١١ - الذبول المبقع فى الطماطم *Tomato spotted wilt*.
 - ١٢ - موزايك الدخان *Tobacco mosaic*.
 - ١٣ - خشخشة الدخان *Tobacco rattle*.
- وكذلك الميكوبلازما، مثل:
- ١٤ - مكنسة الساحرة فى البرسيم الحجازى *Alfalfa Witches, broom*.
 - ١٥ - اصفرار الأستر *Aster yellows*.
- والفيروسات الثلاثة التالية وجد أنها تتكاثر داخل نباتات الحامول التى تقوم بنقلها:
- ١ - اصفرار الباي بيرى *Bay berry yellows*.
 - ٢ - أزهار الكرانبيرى الكاذبة *Cranberry false blossom*.
 - ٣ - موزايك الخيار *Cucumber mosaic*.
 - ٤ - موزايك الحامول الكامن *Dodder Latent mosaic*.

هذا وقد ذكر الملمان Kunkel (١٩٤٥)؛ Raychauahur (١٩٥٣) أن الفيروس الأول والثانى لم يمكن نقلهما بالعصير، ولكن يمكن نقلهما عن طريق الحامول إلى عديد من العوائل النباتية.

فيروسات النبتات

وللحامل كفاءة عالية في نقل الفيروسات التي تصيب نبات الحامل نفسه. ولكنه أيضاً يمكنهم من نقل فيروسات أخرى مثال فيروس موزايك الدخان TMV، الذي لا يتكاثر فى داخل نبات الحامل، ويعتقد أن الحامل يعمل كقنطرة توصيل Conducting channel.

ولا يوجد شك فى أن استخدام الحامل كطريقة لكشف عوائل جديدة للفيروسات التي كان يعتقد أن للمدى العائلى لها محدود، وسوف يسهل دراسة مثل هذه الفيروسات وكذلك يسهل عمل مقارنة بينها، والفيروسات الأخرى، الشيء الذى كان يعتبر مستحيلاً. ولو أنه يجب الحرص فى ذلك حيث قد توجد بعض الاخطار فى استخدام مثل هذه الطريقة فى التجارب، فحين نعد أو نجد عائلاً جديداً لبعض الفيروسات، فربما نعد أيضاً الفيروس بطريقة جديدة لانتشار، وربما يكون العائل الجديد عائلاً للحشرة التي قد تعمل كناقلة للفيروس.

رابعاً: الانتقال عن طريق البذور: Seed Transmission

أولاً: البذور وأهميتها (Seed borne Viruses):

تعرف البذرة فى النباتات البذرية بأنها البويضة المخصبة الناضجة بعد نمو الزيجوت بها، وتكشفه إلى الجنين الذى يمثل الطور الجرثومى الصغير للنبات، محاطاً بأغلفته فى حالة تلون غالباً. وتعتبر البذرة أداة حفظ النوع فى النباتات البذرية السائد، كذلك عامل مهم فى المحافظة على استمرار تطور الأنواع النباتية، بما تشمله من أنواع العمليات الجنسية والوراثية، التي تدخل فى إنتاجها. ويعتبر استخدام التقاوى الحالية من الأمراض المختلفة ضرورياً جداً لتحسين إنتاج المحاصيل الزراعية المختلفة سواء بستانية أو حقلية، وذلك مهما توفرت عوامل الإنتاج الأخرى من مواعيد زراعة ورى وتسميد وغيرها. . فلن يعوض الضرر الناتج عن استخدام تقاوى مصابة بالأمراض والنتيجة هى خفض المحصول الناتج كمياً ونوعاً.

ثانياً: الأهمية الاقتصادية لانتقال الفيروسات عن طريق البذور:

أعطى انتقال الفيروسات عن طريق البذور أهمية اقتصادية قليلة لعدة سنوات مضت، وذلك لعدم الأهمية الاقتصادية للمحاصيل التي تنتقل الفيروسات عن طريقها، ولكن الآن عرف حوالى ٨٥ فيروساً و ١٢٠ عائلاً، أكثرها نباتات اقتصادية تشترك فى الانتقال بالبذرة،

وكذلك اتضحت أهمية الانتقال بالبذرة نتيجة :

١ - بعض الفيروسات التي تنتقل بالبذرة، تعتمد كلياً أو جزئياً على الانتقال لمسافات طويلة وكثير من هذه الفيروسات قادر على إلحاق ضرر شديد للمحاصيل النباتية التي تصيبها، بالإضافة إلى قدرة بعض هذه الفيروسات في الاحتفاظ بحيويتها مدة طويلة بالبذرة، وبالتالي نجد أن البذرة تلعب دوراً مهماً في انتشار وحفظ الفيروس. ومثال ذلك :

١ - أهمية الانتقال عن طريق البذور في حمل فيروس موزايك الفاصوليا العادى - Com- mon bean mosaic Virus (CBMV) أثناء انتقال كميات البذور التجارية، حيث يعتبر انتقال هذا الفيروس في البذور عاملاً مهماً في إنتاج الفاصوليا في الأماكن، التي تنمو فيها أصناف الفاصوليا الحساسة للمرض الفيروسي، ومن المحتمل أن الانتقال عن طريق البذور هو العامل الرئيسى في التوزيع الجغرافى الواسع لفيروس موزايك الفاصوليا العادى.

ب - انتقال فيروس التخطيط الموزايكى فى الشعير Barley stripe mosaic- خلال بذور الشعير والقمح مسعول عن الحساسة الكبيرة فى هذين المحصولين فى عدد من مناطق إنتاج الحبوب فى العالم.

٢ - انتقال الفيروس عن طريق البذور يؤدي لإصابة النبات فى أطوار نموها الأولى مما يجعلها كمصادر عدوى مبكرة فى الحقل، والأهمية القاطعة للنقل عن طريق البذرة أنه حتى فى حالة الانتقال بنسبة منخفضة التى قد تصل إلى ٠.٥% أو أقل، وفى حالة زراعتها فى وجود حشرات نشيطة فى موسم النمو، يمكن أن تحدث خسائر كاملة للمحصول، مثال ذلك :

١ - كان Doolittle & Gilbert (١٩١٩) أول من بينا الأهمية الاقتصادية لانتقال الفيروسات عن طريق البذور، عندما وجدوا أن نسبة من بذور الخيار البرى *Echinocistis lobata* المصابة بفيروس موزايك الخيار تحمل الفيروس وتنشأ مركز لإصابة حقول الخيار المنزوعة تجارياً، عن طريق البذور الحاملة للفيروس عن طريق الناقلات الطبيعية.

ب- مثال نباتات الخس المصابة بفيروس موزايك الخس *Lettuce mosaic virus* (LMV) تصل نسبة الانتقال لأكثر من ٥٪ خلال بذور الخس، ولكن الانتقال عن طريق البذور يعتبر العامل الرئيسى فى نشر الفيروس فى إنجلترا؛ حيث يعتبر النقل عن طريق بذور الخس عاملاً من العوامل المحددة لإنتاج الخس، فإذا ارتفعت نسبة البذور المصابة عن ١,٠٪ فإن مقاومة المرض فى الحقل تكون غير مرضية؛ لذلك فإن استعمال تقاوى خالية تماماً من الإصابة الفيروسية طريقة أساسية لمقاومة الفيروس فى ولايتى كاليفورنيا وأريزونا بالولايات المتحدة الأمريكية، مثل: الصنف *Cheshunt Early Giant* الذى لا ينتقل الفيروس خلال بذوره.

٣ - ومع أن انتقال الفيروس عن طريق بذور بعض النباتات ليس ذا أهمية اقتصادية كبيرة بالنسبة للنبات الناقل نفسه، إلا أن النقل عن طريق هذا الصنف من النبات قد يكون بالغ الأهمية بالنسبة للمحاصيل الأخرى، التى يصيبها الفيروس، ويزداد انتشاره عن طريق هذه البذور المصابة.

مثال: فيروس موزايك قصب السكر *Sugar Cane mosaic virus* (SCMV) ينتشر بسرعة أكثر بين حقول الذرة والأنواع الأخرى الحساسة عن طريق المن، ومن المحتمل أن النسبة الصغيرة من الانتقال عن طريق بذور الذرة تمكن الفيروس من الانتشار فى مناطق بعيدة عن مناطق انتشاره.

٤ - انتقال الفيروس عن طريق البذور أضاف صعوبة إنتاج أصول من الشتلات خالية من الفيروس فى الفواكه الحجرية، كما فى حالة فيروس النيكروز الحلقي فى الكرز *Cherry necrotic ring spot virus* الذى ينتقل عن طريق البذور؛ مما يسبب انتشاره الكبير فى أصناف عديدة خاصة الأصناف، التى يصعب فيها مشاهدة أعراض واضحة. ولمقاومة المرض، لابد من عمل اختبارات مستمرة للشتلات التى يفضل زراعتها قبل استعمالها. كذلك بالنسبة للموالح.. فإنه من المعروف عدم مقدرة أغلب الفيروسات التى تصيب الموالح على النقل عن طريق البذور، وهذا له أهميته الكبيرة فى إنتاج مزارع خالية من الأمراض.

٥ - من ناحية أخرى أشار العالم *Cadman* سنة ١٩٦٣ إلى أهمية نقل الفيروسات عن طريق

البذور في الدور، الذى تلعبه في نقل الفيروسات التى تنتقل بالنيماطودا. ولقد أثبت Lister and Murant سنة ١٩٦٧ أن النيماطودا يمكنها أن تحمل فيروس الحلقة السوداء في الطماطم Tomato blackring virus، وتصبح معدية عن طريق تغذيتها على البادرات المصابة بالفيروس عن طريق البذرة. ولقد أثبت الباحثان أن النيماطودا يمكنها أن تحمل الفيروس حوالي ٩ أسابيع، ولكن عندما تنمو بذور الحشائش الحاملة للمرض، فإن النيماطودا تستعيد قدرتها على حمل الفيروس وإصابة النبات عن طريق التغذية على هذه الحشائش - كما أثبت الباحثان أن فيروس الحلقة السوداء في الطماطم (TBRV) يرجع انتشاره إلى النقل عن طريق البذرة، أكثر منه عن طريق النيماطودا الناقلة للفيروس؛ وذلك لأن النقل عن طريق النيماطودا يحدث في مناطق محدودة وانتشاره منها يكون بطيئاً بعكس البذور، التى يمكن أن تنقل الفيروس لمسافات كبيرة جداً، كما وجد الفيروس منتشراً في الأماكن، التى لا توجد فيها النيماطودا الناقلة للفيروس.

وكذلك ينتقل فيروس Tobacco rattle virus عن طريق بذور *Stellaria media*، وعن طريق النيماطودا *T. primitivus* & *Trichodorus pachydermus*.

وعن طريق هذه العلاقة يزداد تأثير الانتقال بالبذرة والنيماطودا، حيث أظهرت الفيروسات التى تنتقل عن طريق النيماطودا قدرة عالية على الانتقال خلال البذور، وذلك للأسباب الآتية:

١ - وجود مدى عوالتى واسع من الأنواع النباتية التى تنتقل الفيروسات عن طريق بذورها، فقد وجد أن Tobacco ringspot virus ينتقل خلال بذور عديد من العوائل، مثل: فول الصويا والدخان والبتونيا، وكذلك عن طريق النيماطودا *Xiphinema americanum*.

ب - لارتفاع نسبة البذور المصابة الماخوذة من نباتات حاملة للفيروس.

٦ - من الأهمية الاقتصادية لانتقال الفيروس عن طريق البذور أن القائمين بالحجر الزراعى في أغلب الأحوال لا يستطيعون بسهولة تحديد هذه الفيروسات في البذور، الأمر الذى يساعد على دخول هذه الفيروسات إلى البلاد الخالية منها.

ثالثاً : تقسيم وحصر الفيروسات المحمولة فى البذرة :

لقد حاول العالم Hansen عام ١٩٧٠ تقسيم الفيروسات المحمولة بالبذرة إلى مجموعات رئيسية، وكان ذلك بناء على شكل وحجم جزيئات الفيروس، فشملت :

١ - جزيئات كروية أو متعددة الجوانب (وهى فيروسات غير معروف أنها تنتقل عن طريق البذرة).

٢ - جزيئات عصوية الشكل .

٣ - جزيئات متعددة الاشكال غالباً مستديرة .

٤ - جزيئات صغيرة جداً من نوع الفيرويد .

٥ - جزيئات غير معروفة .

رابعاً : إصابة البادرات عن طريق الفيروس المحمول خارج الجنين :

١ - الفيروس المحمول على سطح البذور :

من الواضح ان البذور الناتجة من النباتات المصابة جهازيًا سوف تحمل الفيروس كتلوث على سطح البذرة؛ خاصة فى حالة البذور المستخرجة من الثمار اللحمية أو اللبغية مثل الطماطم - القاوون - البطيخ - الخيار، ومع ذلك لكى تنقل للجيل التالى، يكون من الضرورى للفيروس ان يبقى نشطاً أو فعلاً على سطح البذور؛ حتى تنبت ثم يتم الحصول على الفيروس من البذور المستخرجة من ثمار الطماطم المصابة باستعمال حمض الايدروكلوريك.

٢ - الفيروس المحمول فى أجزاء البذرة خارج الجنين :

من المحتمل أن عدداً كبيراً من الفيروسات يوجد فى البذور فى بعض مراحل تكوينها، وحتى مع ذلك لا تنتقل بالبذرة - ففى مراحل تكوين البذور، تتحرك الكربوهيدرات إلى البذور كغذاء مخزن، وحيث يوجد دليل على أن حركة الفيروس فى اللحاء مرتبطة بانتقال الكربوهيدرات؛ فالفيروسات التى توجد بتركيز عالٍ فى اللحاء، من المتوقع أن تنتقل بكمية كبيرة إلى البذور، التى تملك أوعية متصلة بالنبات الأم، حيث تكون الحركة فى حالات

معينة أكثر تأثيراً في إدخال أنواع معينة من الفيروسات إلى نسيج البذرة عن طريق الحركة خلال طرق الغزو العادية في الأنواع المختلفة من الأنسجة البرانشيمية.

يوجد فيروس تجمعد القمة في بنجر السكر Sugarbeet Curly top virus بتركيز عالٍ نسبياً في بيريسيرم بذور نباتات البنجر المصابة، ولكن الأجنة المعزولة من البذور بعد بدء إنباتها لا تحتوي على الفيروس، بينما يحتوي باقي البذرة على الفيروس بكمية كبيرة.

كذلك وجد Sheffield (١٩٤١) من دراسة المحتويات الداخلية لفيروس Tobacco etch virus أنه يصيب الغلاف، ولا يصيب الإندوسبرم أو الجنين في بذور *Hyocymus niger*.

وجد Crowley (١٩٥٧) أن فيروس موزايك الخيار (CMV) يوجد في قصرة بذور الخيار، وفي قصرة وإندوسبرم بذور الخيار البري، وفيروس موزايك الفاصوليا الأصفر Bean yellow mosaic virus يوجد في قصرة بذور الفاصوليا وفيروس الذبول المبقع في الطماطم Tomato spotted wilt virus في غلاف بذرة الطماطم، وفيروس موزايك الفاصوليا العادية في القصرة والجنين لبذور الفاصوليا، ومع ذلك يتم انتقال الفيروس عن طريق بذور الفاصوليا عن طريق الفيروس المحمول في الجنين.

كذلك وجد Gold وآخرون عام (١٩٥٤) وجود جزيئات فيروسية في إندوسبرم بذور الشعير المصابة بفيروس التخطيط الموزايكي في الشعير، بتركيز عالٍ، كما في أنسجة الورقة، وهذا الفيروس يغزو الجنين وينتقل عن طريق البذور.

كذلك وجد Crowley سنة ١٩٥٧ فيروس موزايك الدخان في غلاف بذور الفلفل الحريف. ووجد Taylor وآخرون سنة ١٩٦١، Broadbent سنة ١٩٦٥ أن فيروس موزايك الدخان يوجد بنسبة صغيرة في إندوسبرم بذور الطماطم المصابة.

ووجد Wilks and Gilmer عام ١٩٦٧ أن فيروس TMV ينتقل بنسبة عالية في بذور التفاح والكمثرى؛ حيث وجد الفيروس في الشق البطني من القصرة، ولم يحصل على الفيروس من الفلقات أو أجنة البذور الساكنة، ولكن أمكن الحصول على الفيروس من جنين وقصرة صنفين من أصناف التفاح.

وجدت نسبة عالية من بادرات الطماطم والفلفل المصابة بفيروس موزايك الدخان عند

شتل البادرات، ولقد استنتج Taylor وآخرون ١٩٦١ أن الشتلات النامية من بادرات ملوثة حيث يكون التلوث عادة على الجذور؛ حيث إنه عند سقوط غلاف البذرة فى التربة أثناء الإنبات يحدث تلوث للجذور والفلقيتين بالفيروس، ولا تحدث الإصابة إلا إذا شتل البادرات، حيث إنه أثناء عملية الشتل يتقاطع جزء من الجذور؛ مما يساعد الفيروس على الدخول للداخل النبات وإحداث الإصابة.

خامساً: انتقال الفيروسات التى تحمل فى الجنين:

يزداد عدد الفيروسات التى عرف أنها تصيب الجنين وتنتقل بذلك فى البذور، وعدد الأنواع النباتية التى تشترك فى انتقال الفيروسات عن طريق البذور فى السنين الحالية، فقد وجد Fulton عام ١٩٦٤ أن ٣٦ فيروساً ينتقل خلال ٦٣ نوعاً نباتياً، وهذا العدد يزداد باستمرار فى الأبحاث الحديثة.

وفى الجدول (٨ - ١) نأخذ فكرة عن بعض الفيروسات والأنواع النباتية، التى تنتقل خلال بذورها متضمنة النسبة المئوية للانتقال.

طرق إصابة الجنين:

يعتمد انتقال الفيروسات عن طريق البذور مع بعض الاحتمالات الشاذة على إصابة الجنين فى بعض مراحل تكوينه أو نموه - وتحدث إصابة الجنين بإحدى الطرق التالية:

١ - خلال إدخال الفيروس إلى الكيس الجنينى بواسطة الجامطة المذكورة.

٢ - خلال غزو البويضة بواسطة الفيروس من النبات الأم.

٣ - خلال الغزو المباشر للجنين فى بعض مراحل نموه.

١ - إصابة الجنين عن طريق الطلع (حبوب اللقاح):

اقترح Reddick and Stewart (١٩١٨) أن فيروس موزايك الفاصوليا العادى يحمل فى حبوب اللقاح، ويمر من انبوبة الإنبات إلى القلم أثناء التلقيح، وتنتج الإصابة، كذلك وجد أنه عندما تلقح الأزهار السليمة بلقاح نباتات مصابة، يحدث انتقال للفيروس عن

طريق البذور؛ مما يدل على أن حبوب اللقاح تحمل الفيروس وتنقله إلى الجنين.

كذلك وجد Nelson and Down (١٩٣٣) في دراسة انتقال فيروس موزايك الفاصوليا العادى BCMV، خلال البذور في صنفين من الفاصوليا – عندما يكون نبت واحد مصاباً تكون نسبة الانتقال خلال البذور في الجيل الأول حوالي ٢٥٪، وهذا يشير إلى أن التأثير متساوٍ في الانتقال خلال حبوب اللقاح والمبيض في الأصناف المختبرة، ومع ذلك بين Medi-na and Grogan عام (١٩٦١) أنه على الرغم من أن نسبة عالية من الانتقال عن طريق البذور وجدت خلال كل من حبوب اللقاح والمبيض، فإن كمية الانتقال خلال الآباء تعتمد كثيراً على صنف النبات المستعمل، ووجد Gold وآخرون جزئيات عصبية الشكل، ترتبط بالإصابة بفيروس التخطيط الموزايكي في الشعير في نباتات الشعير في حبوب اللقاح والمتاع – حوالي ١٠٪ من البادرات الناتجة من بذور النباتات السليمة التي لقحت من نباتات مصابة أظهرت أعراض المرض. بينما كانت نسبة انتقال الفيروس خلال بذور النباتات المصابة أعلى من ذلك غالباً ٥٪ أو أكثر، لذلك كان انتقال هذا الفيروس خلال حبوب اللقاح أقل فاعلية من خلال البويضة، ومع ذلك يجب أن يؤخذ في الاعتبار الصنف والظروف المختلفة.

في حالة الفيروس Elm mosaic virus وجد أن نسبة الانتقال عن طريق البذرة تكون أكثر عند إصابة نبات الأم، عنها عند إصابة نبات الأب، فعندما يكون الأب مصاباً تكون نسبة الانتقال ٣٠٫٥ ٪، وعند إصابة الأبوين تكون حوالي ٤٨ ٪.

كذلك في حالة فيروس Lychnis ringspot virus تكون نسبة الانتقال بالبذرة عند إصابة الأب فقط ١٨٫٦ ٪، وعند إصابة الأم تكون ٣٠٫٧ ٪، وعند إصابة الأبوين تكون النسبة ٣٣٫٦ ٪.

في الفواكه ذات النواة الحجرية، يحدث انتقال للفيروسات عن طريق حبوب اللقاح، فقد وجد Gilmer & Way (١٩٥٨) انتقال فيروس النيكروريس الحلقي في الكريز عن طريق النبات المذكر المصاب إلى النبات المؤنث السليم.

توجد معلومات محدودة على أن الفيروسات التي لا تنتقل عن طريق البذور تغزو أيضاً

حبوب اللقاح، وقد يكون ذلك نتيجة أن حبوب لقاح كثير من النباتات تكون مقاومة بدرجة عالية أو منيعة لغزو الفيروس، حتى فى حالة الغزو العالى للفيروسات مثل فيروس موزايك الدخان TMV، وعلى الرغم من أن انتقال الفيروس إلى الجاميطة المؤنثة عن طريق حبة اللقاح عرف منذ أكثر من ٤٠ عاماً، إلا أنه توجد معلومات حالية للتساؤل عما إذا كان دخول الفيروس قاصراً على المبيض، أو يمكن أن يهرب ويصيب النبات الأم.

اقترح Reddick & Stewart (١٩١٨ و ١٩٣١) أن ذلك يحدث فى حالة فيروس موزايك الفاصوليا العادى؛ حيث ينتقل المرض من النباتات السليمة أو النباتات المصابة عن طريق حبوب اللقاح، ولكن الانتقال بهذه الطريقة فى الفاصوليا لم يثبت.

كذلك وجد Lister and Murant (١٩٦٧) انتقال فيروس البقع الحلقية فى الشليك عن طريق حبوب اللقاح.

وعلى الرغم من أن النتائج المبكرة فشلت فى إظهار انتقال الفيروسات إلى النبات الأم عن طريق حبوب اللقاح، فقد أعطت اختبارات أخرى دليلاً على أن ذلك ممكن أن يحدث، على الرغم من كونه نادراً.

يبدو الآن وجود دليل على أنه يحتمل هروب الفيروس من المبيض وغزوه للنبات الأم المثير فى ذلك ميكانيكية منع ذلك من الحدوث؛ فالفيروس يهرب من المبيض ولكن غير قادر على غزو الأنسجة المجاورة بمعدلات سريعة كافية، لكى تسمح للفيروس لكى يثبت نفسه ويتكاثر فى النبات الأم، ويعطى إصابة جهازية. معدل سرعة حركة الفيروس أحياناً توجد فى اللحاء، ويوجد دليل على أن هذه الحركة مرتبطة بانتقال الكربوهيدرات؛ حيث يكون من المتوقع أن الكربوهيدرات تتحرك أكثر أو أقل من اتجاه الثمار، وبذلك فإن سرعة غزو النبات الأم من المبيض بواسطة الفيروس تكون مستبعدة، وحتى إذا وصل الفيروس إلى اللحاء - غزو الأنسجة خارج اللحاء تكون محدودة؛ نتيجة لأن حركة الفيروس تكون بطيئة نسبياً من خلية برانشيمية لأخرى، ومن المتوقع أن حركة الفيروس من مبيض الكريز كمثال - خلال الأنسجة المحيطة بهذه الطريقة ولاسفل خلال أنسجة الثمرة ثم إلى الأنسجة البرانشيمية - تتطلب وقتاً كبيراً، وفى كثير من الحالات فإن الثمار تنضج وتجمع، قبل أن

يحدث ذلك حتى إذا تحرك الفيروس خارج المبيض.

٢ - إصابة الجنين نتيجة غزو الفيروس للبويضة في نبات الأم:

من الممكن أن نكتشف وجود أو غياب عدد من الفيروسات من الجاميطة المذكورة للنبات. ولكن من الصعب تقرير ذلك بالنسبة للجاميطة المؤنثة، ويبدو أن الفيروس الذي يستطيع غزو الجاميطة المذكورة أن يغزو أيضاً المؤنثة. في كثير من حالات الانتقال عن طريق حبوب اللقاح يدخل الفيروس مباشرة إلى الكيس الجنيني، عن طريق أنبوبة حبة اللقاح أثناء عملية الإخصاب حيث يثبت ويصيب الجنين - وهكذا إذا أصبح الكيس الجنيني مصاباً خلال دخول الفيروس مباشرة بواسطة حبة اللقاح، ومن هذا يبدو أن المبيض سوف يصاب خلال غزو الفيروس للمبيض من الخلايا المجاورة في نبات الأم في مراحل مبكرة أو متأخرة من نمو المبيض.

يوجد دليل آخر على إصابة المبيض، وجد في العلاقة بين الانتقال عن طريق البذور ووقت إصابة نبات الأم - حيث وجد Fajardo (١٩٢٨) أن نباتات الفاصوليا النامية من بذور نباتات مصابة بفيروس موزايك الفاصوليا العادى أعطت نسبة عالية من البذور المصابة عن النباتات المحقونة، خلال مراحل النمو الخضري، ولم يجد انتقال عن طريق البذور في البذور الناتجة من القرون المجموعة قبل إصابة نبات الأم.

استنتج Nelson أن الانتقال بالبذرة في فيروس موزايك الفاصوليا يعتمد على قدرة الفيروس على الوصول للمبيض قبل الإخصاب أو بعد ذلك بقليل.

كذلك وجد Couch (١٩٥٥) أن نباتات الخس المحقونة بفيروس موزايك الخس Lettuce mosaic virus قبل التزهير، أعطت بذوراً قليلة مصابة بالفيروس عن النباتات المصابة بعد الزراعة مباشرة. أما النباتات التي أصيبت بعد التزهير لم تعط انتقال خلال البذور.

٣ - الإصابة خلال الغزو المباشر للجنين:

على الرغم من أن الانتقال بالبذور يعتمد على إصابة الجنين بالفيروس في مرحلة مبكرة من تكوينه، حيث يغزو الفيروس الكيس الجنيني أولاً - بعض الملاحظات تشير إلى أن ذلك

لا يكون ضرورياً في جميع الحالات.

على الرغم من أن Hagbory (١٩٥٤) وجد أن نباتات القمح المحقونة بفيروس التخطيط الموزايكي في الشعير في وقت طرد السنابل، لم تعط انتقالاً عن طريق بذورها، بينما وجد اختلافاً في النتائج المتحصل عليها مع هذا الفيروس في حالة الشعير - حيث وجد أن نسبة الانتقال عن طريق البذور تصل إلى ٦٣,٧ ٪ في حالة البذور المصابة في مرحلة النضج، ثم تهبط، ولكن تبقى بالمعدل نفسه في مرحلة طرد السنابل والطور العجيني الصلب.

استنتج Crowley (١٩٥٩) أن إصابة الأجنة الصغيرة المتكونة في الشعير بفيروس التخطيط الموزايكي محتملة، على الرغم من أن نسبة عالية من الإصابة وجدت عندما حقنت النباتات قبل التزهير فقط.

هذه النتائج تدل على أن نباتات معينة وبعض الفيروسات تكون قادرة على غزو المبيض أو الكيس الجنيني - كما في حالة الإصابة المتأخرة في الشعير المصاب بفيروس التخطيط الموزايكي، حيث يحتمل غزو الجنين حتى بعد وصوله إلى مرحلة النضج.

سادساً: أمراض البذور المتسببة عن الفيروسات:

أحسن أمثلة لتأثير الفيروس على موت جنين البذرة فيروسات Tomato aspermy virus وموزايك الفاصوليا الجنوبي، حيث يسببان موتاً للبذور وعمقاً للأزهار (Inouye, 1962). ولقد ذكر أيضاً Seth (١٩٦٢) أن الفيروس Pigeon pea sterility mosaic الذي ينتقل عن طريق الحلم، ولا ينتقل خلال البذور، ورغم ذلك يؤدي لعقم بذور Pigeon pea، وكذلك تؤثر فيروسات أو ميكوبلازما Citrus spiroplasma في أنواع عديدة من الموالح المصابة، على الرغم من عدم انتقالها عن طريق بذورها.

وهناك عديد من الأمثلة على الفيروسات المحمولة بالجنين وتأثيرها على خفض حيوية البذور خصوصاً البقوليات مثل البسلة المصابة بفيروس Pea early browning تصبح البذور مجمدة، وتميل القصرة إلى اللون الرمادي المائل للخضرة، وتصبح بذور اللوبيا المصابة بفيروس موزايك اللوبيا صغيرة ومجمدة (Phatat and Summanwar, 1967)، وتصبح

بذور البسلة المصابة بفيروس موزايك اللوبيا المحمول بالبذرة مجمدة، وتتلون قصرة بذور فول الصويا المصابة بفيروس موزايك فول الصويا تتلون بتبرقش لونه بنى أو أسود عند منطقة السرة، وتصبح البذور أصغر في الحجم من البذور السليمة (Phatat, 1974). وتتلون قصرة بذور فول الصويا المصابة بفيروس تقزم فول الصويا بتبرقش واضح، وكذلك بذور الـ *Mung bean mosaic* المصابة بفيروس *Mung bean mosaic*، حيث تأخذ مظهر التجعد والتكرمش (Phatat, 1974)، أما بذور الفول السوداني المصابة بفيروس تبرقش الفول السوداني فتكون ملونة وأصغر في الحجم من البذور السليمة، وكذلك حبوب الشعير المصابة بفيروس الموزايك المنقط في الشعير، والتي تكون مجمدة وأصغر في الحجم من السليمة.

يسبب فيروس موزايك قصب السكر الذى ينتقل خلال بذور الذرة السكرية نكروزيس فى النورات أما البذور فتصبح مجمدة وأصغر فى الحجم عن السليمة، كذلك تصبح بذور القرعيات *Cucurbita pepo* المصابة بفيروس موزايك الكوسة أخف من البذور السليمة وضعيفة ومشوهة (Middleton, 1944). وفى تجربة لبعض بذور الخس السليمة عن المصابة كان ذلك بناء على الوزن، كذلك وجد أنه فى عديد من الأصناف يؤدى فيروس موزايك الخس لحدوث نكروزيس على البذور، ونقص فى قدرتها على الإنبات.

- وتؤثر الإصابة بفيروسات *BYMV & CMV* على بذور الترمس، وتؤدى لصفرها فى الحجم وبالنسبة للازهار التى تحملها تكون مكرمشة، وتعطى قروناً قليلة مشوهة تحتوى على بذور قليلة حاملة للفيروس (Troll, 1957).

- وفيروس موزيك الدخان (السلالة التى تصيب الطماطم) يسبب نكروزيس على بذور الطماطم وتأخذ اللون الأسود (Broadbent, 1965).

- بعض الفيروسات تؤثر مباشرة على حيوية البذور مثل فيروس موزايك الخس والسلالة الخفيفة للفيروس، المنتقل خلال بذور حشيشة الدينار يؤدى لنقص فى نسبة الإنبات حوالى ٢٠٪، وقد يصل إلى ٩٠٪ (Blattny & Osvald, 1957) بذور الـ *Spergula arvensis* المصابة بفيروس الحلقة السوداء تنبت ببطء عن البذور السليمة، ولكنها تعطى

تأثيراً ضعيفاً، أو لا تؤثر على البادرات (Lister & Murant, 1963).

سابعاً: العوامل التي تمنع انتقال الفيروسات عن طريق البذور:

على الرغم من الطبيعة الجهازية لأغلب الفيروسات المعدية، إلا أن الانتقال عن طريق البذور غير دائم الحدوث، وذلك بسبب ما يلي:

١ - فقد الفيروس فاعليته أو تثبيطه في الجنين.

٢ - الفيروس يميت أو يشوه الجاميطات، وهذا يسبب عقم الجاميطات ويمنع إنتاج البذرة المصابة بالفيروس.

٣ - عدم مقدرة الفيروس على إقامة علاقة توافق مع الجاميطات، ولقد وجدت هذه الفيروسات في الأجزاء الزهرية والبذور غير الناضجة، ولكن عند وجودها في البذور الناضجة توقف نشاطها.

٤ - عدم مقدرة الفيروس على إصابة الأجنة الصغيرة، إما بسبب مقاومة الجنين للإصابة أو عدم مقدرة الفيروس على إصابة الجاميطات المذكرة أو المؤنثة قبل تكوين الجنين.

وهذا يبين أيضاً أن الفيروسات التي تكون قاصرة على الحزم الوعائية لا تستطيع الانتقال خلال البذور، حيث لا يوجد اتصال وعائي بين الجنين والنباتات الأم - وذلك يفسر حقيقة أن الانتقال بالبذور يكون قاصراً على الفيروسات، التي تكون قادرة على غزو الأنسجة البرانشيمية.

وتبعاً للعالم كراولي (Crowley 1957):

توجد ٣ أقسام من الفيروسات التي يستحيل انتقالها خلال البذور، وهي:

١ - الفيروسات التي تقتل عوائلها.

٢ - الفيروسات التي تمنع تكوين الأزهار.

٣ - الفيروسات التي يكون انتشارها في النبات العائل محدوداً.

ولقد ذكر Bennett (1969) العوامل المحددة لانتقال الفيروس عن طريق البذور، وهي

كما يلي:

١ - تثبيط الفيروس في الجنين:

هناك احتمال كما اقترح Duggar (١٩٣٠) بأن المثبطات الموجودة في البذور سوف تؤثر على الانتقال خلال البذور مثال ذلك: وجود أنواع خاصة من البروتينات أو مواد معينة أخرى في البذرة ربما تمنع انتقال فيروس TMV عن طريق البذور.

ولقد اقترح Caldwell (١٩٦٢) أن الجنين بيئة غير صالحة لتكاثر الفيروس، بسبب وجود كمية قليلة من المواد الفسفورية ذات الطاقة العالية، اللازمة لتضاعف الفيروس؛ حيث إنه أثناء عملية الانقسام الميتوزي، تحتاج الخلية النامية إلى كمية كبيرة من هذه المواد، ونتيجة ذلك فإنه في المراحل الأولى من تكوين الجنين يستخدم هذه المواد، وبالتالي لا يستطيع الفيروس التكاثر ويثبط في النهاية، وربما أفضل مثال على توقف نشاط الفيروس في القدرة هو ما ذكره العالمان Zaumeyer & Harter عام (١٩٤٣) على فيروس موزايك الفاصوليا الجنوبي في الفاصوليا؛ حيث استردا الفيروس من بذور الفاصوليا في الطور اللبني والطور العجيني المبكر، ومن البذور حديثة النضج، ولكن فشلا في استرداده من البذور المخزنة لمدة ٧ شهور.

كذلك ذكر Cheo (١٩٥٥) أن فيروس موزايك الفاصوليا الجنوبي يصيب الجنين الصغير، ويزداد تركيزه بنضج الجنين، بينما يهبط تركيز الفيروس لمستوى منخفض، أو يصل إلى الصفير عند جفاف البذور، وذلك بتغيير التركيب الكيماوي في الجنين. فالبادرات النامية من البذور غير الناضجة أعطت نسبة إصابة ٥٨-٨٠٪ عند إنباتها على ورق ترشيع، بينما البادات الناجمة من بذور ناضجة أحياناً لا تحتوى على الفيروس، كذلك وجدت كمية كبيرة من المواد المثبطة للفيروس في العصارة المستخلصة من البذور الناضجة عن المستخلصة من البذور غير الناضجة.

٢ - عقم الجاميطات:

التأثير المباشر للفيروس على الجاميطات أو الجنين يؤدي لمنع تكوين أو إنتاج بذور مصابة

— حيث وجد ذلك فى عدد محدود من الحالات .

يسبب فيروس البقع الحلقية فى الدخان Tobacco ringspot virus عقم حبوب اللقاح، ويقلل محصول البذور، ولكن لا يؤثر الفيروس على المبيض . هناك حالة أخرى مشابهة وجدت فى فيروس موزايك الخس Lettuce mosaic virus — فى الخس — حيث يسبب هذا الفيروس درجة عالية من عقم حبوب اللقاح، ويحدث الانتقال بواسطة حبوب اللقاح بقلة جداً — ولكن الانتقال عن طريق المبيض لا يتأثر بالدرجة نفسها — كذلك لفيروس To-mato aspermy virus على الطماطم تأثير مباشر وعميت على حبوب اللقاح والبويضات؛ حيث يتدخل فى عمليات الانقسام العادى للجاميط المذكرة والجاميط المؤنثة، ويمنع تكوين البذور فى النباتات المريضة (Caldwell, 1952). ووجدت نسبة عالية من حبوب اللقاح العقيمة فى الشعير عند إصابتها بفيروس التخطيط الموزايكى فى الشعير Barley stripe mosaic virus، ووجد Inouye (١٩٦٢) نقصاً فى عدد البذور المخصبة فى القمح المصاب بهذا الفيروس فى اليابان، وذلك بنسبة ٢٠-٥٠٪، ولكن لم يوجد نقص كبير فى نسبة البذور المصابة .

اقترح Couch (١٩٥٥) أن غياب الانتقال خلال بذور الخس المصابة بفيروس موزايك الخس فى الصنف Chestnut Early Giant يرجع إلى أن الأزهار التى تنشأ على الفرع الأصلى تموت بمجرد تكوينها نتيجة للإصابة بالفيروس، والأزهار التى تتكون على الأفرع الثانوية تكمل نموه وتكون البذور الناتجة منها خالية من الفيروس .

٣ - قابلية الجاميطات للإصابة بالفيروس:

إن الدراسات السيتولوجية والتشريحية والعوامل الأخرى التى لها علاقة بظهور أجيال خالية من الفيروس لعدد من النباتات المصابة بالفيروس، تم دراستها بواسطة عديد من العلماء . فوجد أنه من الواضح أن خلو الجاميطات الناتجة من النباتات المصابة جهازياً من الإصابة تعزى إلى مقاومة الجاميطات وراثياً لغزو الفيروس وتكاثره أو هروبها من الإصابة أثناء عملية الحماية الميكانيكية، ولقد ذكر للمؤلف Medina & Grogan (١٩٦١) وجود دليل على أنه فى بعض الحالات تكون الجاميطة المؤنثة منيعة للإصابة بالفيروس، فعند تلقيح

صنفين من الفاصوليا، بهما عامل المقاومة سائد مع أصناف أخرى حساسة للإصابة، لم يحدث انتقال خلال البذور.

وعلى الرغم من أن الجاميطات لها تأثير على تثبيط الفيروسات، وبذلك نقل أو تمنع الانتقال عن طريق عدم قدرة الفيروسات على الغزو الكامل للمرستيم الأولى.

يسمح التأخير في غزو الأنسجة المرستيمية بواسطة الفيروس للجاميطات الناشئة أن تكون خالية من الفيروس، وبعض الفيروسات يكون في استطاعتها غزو الأنسجة المرستيمية، ولكن لا يمكنها أن تعيش في الخلايا البرانشيمية، وذلك يكون سبب فقد الفعالية أثناء عملية النضج للخلية، وهذا فقد في الفعالية من المتوقع أن يؤثر وربما يمنع الانتقال بالبذرة.

هروب طلع خلية الأم من غزو الفيروس بواسطة تأخير غزو المرستيم، وبالتالي هروب حبوب اللقاح من الغزو أثناء النمو السريع غير صعب الملاحظة، ورغم ذلك غير واضح لماذا يوجد مدى واسع من إصابة الطلع باختلاف العائل / فيروس.

٤ - وقاية الجنين من الإصابة بالفيروس:

بالإضافة لميكانيكية وقاية الجاميطات المذكورة والمؤنثة للإصابة، توجد أيضاً ميكانيكية وقاية الجنين أثناء مراحل تكوينه من الإصابة المجاورة، التي تحتوى على كمية كبيرة من الفيروس نتيجة إصابة النبات جهازياً.

عند تكوين الجنين باتحاد البويضة مع حبة اللقاح غير المعدية، فإن الجنين يبدأ في التكوين في بيعة خالية من الفيروس. ولا توجد روابط بروتوبلازمية بين الجنين والخلايا المجاورة، ويصبح الجنين تركيباً طفلياً قادراً على النمو والتكوين، عن طريق امتصاص المواد الغذائية من نبات الأم، ولقد وجد أن الجنين يستطيع امتصاص المواد الغذائية من المنطقة المحتوية على كل من المواد الغذائية والفيروس، دون حدوث إصابة، وفي هذه الحالة يكون جدار خلايا الجنين هو المانع لمرور الفيروس مع المواد الغذائية.

يوجد دليل في حالات قليلة على أن الفيروس قادر على المرور خلال البناء السيليلوزي

لجدار الخلية، كما وضع Kassanis (١٩٥٨) في مزارع الأنسجة أنه مع هذه المقدرة على الحركة خلال جدار الخلية، يظهر جنين نبات الفاصوليا مقاومة عالية ضد غزو الفيروس، وتبعاً للعالم Crowley (١٩٥٩) وجد أن فيروس موزايك الفاصوليا الجنوبي Southern bean mosaic virus يصيب جنين الفاصوليا بعد ٤ أيام من التزهير، وليس بعد ٧ أو ١٠ أيام. كذلك في حالة فيروس التخطيط الموزايكي في الشعير، ينتقل خلال البذور، حتى إذا حدثت العدوى في أوقات متأخرة حتى في الطور العجيني من تكوين البذور - كما وجد Crowley (١٩٥٩) على الفيروس نفسه أن إصابة الاجنة الصغيرة التكوين تظهر محتملة في بعض أصناف الشعير، ولكن نسبة عالية من الانتقال بالبذرة، وجدت عند إصابة النباتات قبل التزهير.

وعلى الرغم من أنه في حالات نادرة تظهر الفيروسات قدرة على الحركة خلال الجدار السيلولوزي الخلوي، لكن ما زالت حركة الفيروس خلال الخيوط البرتوبلازمية التي تصل الخلايا المجاورة في الأنسجة البرانشيمية هي الطريق المفضل لها.

معدل انتقال الفيروس خلال البذور:

هناك عديد من العوامل التي تؤثر على معدل انتقال الفيروس خلال البذور، نذكر منها:

١ - ميعاد إصابة النباتات وتأثيره على نسبة البذور المصابة:

في عديد من الأمراض الفيروسية توجد علاقة ثابتة ما بين ميعاد عدوى المحصول وكمية البذور المصابة، والتي تنقل الفيروس. فلقد وجد كل من Athow & Bancroft (١٩٥٩) علاقة ما بين نسبة انتقال فيروس التبغ الحلقى في الدخان ببذور فول الصويا، ووقت ملاحظة الأعراض الأولية على النباتات في الحقل، فوجد أن الإصابة المبكرة بناء على ملاحظة الأعراض تعطي نسبة معوية عالية في نقل الفيروس خلال البذور، بعكس الإصابة المتأخرة أثناء أو في نهاية مرحلة التزهير؛ إذ تعطي نسبة معوية منخفضة في النقل. وهذه الملاحظة عن تأثير عمر النباتات ووقت العدوى ومعدل النقل بالبذرة تأكدت عن طريق Crowley (1968) & Francki.

ووجد Fajardo (١٩٣٠) أن فيروس BCMV ينتقل خلال بذور الفاصوليا فقط، عندما تكون النباتات الأم مصابة قبل مرحلة التزهير. وكذلك فيروس موزايك اللوبيا المحمول بالملن يقل معدل انتقاله خلال بذور اللوبيا، كلما زاد عمر النبات الأم؛ حيث إنه عند تأخير العدوى لعشرة أيام قبل التزهير أو بعد تزهير المحصول، لا ينتقل الفيروس خلال البذور.

٢ - تأثير العوامل البيئية على نسبة الانتقال خلال البذور (خاصة درجة الحرارة):

أوضحت الدراسات التي أجريت في هذا المجال أن نسبة الانتقال خلال البذور تتأثر بالعوامل البيئية، التي يتم تحتها إنتاج هذه البذور خصوصاً درجة الحرارة.

ووجد العالم Crowley (١٩٥٧) أن نسبة انتقال فيروس عن طريق بذور الفاصول تتراوح ما بين صفر - ٢٥٪ عند تنمية النباتات المصابة، تحت مستويين من درجات الحرارة؛ ففي حالة تنميتها تحت درجة ٦٢ - ٦٥ فهرنهايت، لم يحدث انتقال بالبذرة بعكس في حالة تنميتها على درجة ٦٨ درجة فهرنهايت، كانت نسبة الانتقال خلال البذور ١٦ - ٢٥٪. كما قام Singh وآخرون (١٩٦٠) بعمل دراسات على تأثير درجة الحرارة على انتقال فيروس التخطيط الموزايكي في الشعير BSMV، عن طريق بذور أربعة أصناف من الشعير، تتحمل الإصابة بالفيروس، فوجدوا أنه عند تنمية النباتات في ١٦م، حدث انتقال للفيروس خلال بذور صنف واحد بنسبة ٣٪، ولم ينتقل خلال الثلاث أصناف الأخرى. أما عند تنمية النباتات على درجة ٢٠م حدث انتقال عن طريق بذور الأربعة أصناف بنسبة ٩-٢٧٪، وعند تنميتها على درجة ٢٤م، حدث انتقال عن طريق البذور يتراوح ما بين ٢٨-٧.

٣ - تأثير شدة الأعراض على نسبة الانتقال خلال البذور:

هناك دليل على أن نسبة انتقال الفيروس عن طريق البذور مرتبطة لحد ما بشدة الأعراض، وأن شدة الأعراض ترتبط بتركيز الفيروس، وحيث إن التركيز المنخفض من الفيروس النامي ببطء مما يسمح للجاميطات النامية بالهروب من الإصابة، وكل ما سبق فروض تحتاج لمزيد من الدراسة والأدلة.

٤ - تأثير الفيروس والسلالة الفيرومية على النقل بالبذرة:

تختلف نسبة الانتقال خلال البذور باختلاف الفيروس، فقد وجد أن نسبة انتقال فيروس التبغ الحلقي في الدخان خلال بذور فول الصويا تصل إلى ١٠٠ ٪، وفي حالة نباتات الحس المصابة بفيروس موزايك الحس تصل إلى ٣-١٠ ٪.

كذلك تختلف نسبة الانتقال عن طريق البذور باختلاف سلالات الفيروس الواحد، فقد وجد العالمان Grogan & Schnathorst, 1955 أن « السلالة ٩٨ » من فيروس التبغ الحلقي في الدخان Tobacco ringspot virus تنتقل بنسبة ٣ ٪ خلال بذور صنف الحس -Raris Is- land cos، بينما السلالة "Calico" من الفيروس نفسه لا تنتقل عن طريق بذور الصنف نفسه.

٥ - تأثير اختلاف أنواع واصناف العائل على نسبة الانتقال خلال البذور:

فقد وجد أن الفيروس قد ينتقل خلال بذور نوع من النبات، ولا ينتقل خلال بذور نوع آخر تابع للجنس نفسه، مثال: ينتقل فيروس موزايك الدخان TMV خلال بذور الطماطم والفلفل والدخان، ولا ينتقل خلال بذور أنواع أخرى.

كذلك ينتقل فيروس موزايك الخيار CMV خلال بذور الخيار البري بنسبة ١٠ ٪، بينما في بذور الخيار المنزوع تقل النسبة كثيراً عن ذلك، كذلك فإن فيروس موزايك الكوسة ينتقل خلال بذور الأنواع المختلفة من القرعيات بنسبة تتراوح ما بين صفر إلى ٣٠,٧ ٪.

ووجد أن فيروس موزايك فول الصويا SMV ينتقل بنسبة ٢١,٤ ٪ خلال بذور *Atriplex pacifica*، بينما لا تنتقل خلال بذور ٥ أنواع أخرى من جنس *Atriplex* نفسه.

كذلك تختلف نسبة الانتقال بالبذرة باختلاف الأصناف التابعة للعائل نفسه، كما في حالة فيروس موزايك الحس، الذي لا ينتقل خلال بذور الصنف Cheshnut Early Giant، بينما ينتقل بنسب مختلفة تتراوح ما بين ٨-١ ٪ خلال بذور الأصناف الأخرى من الحس.

ثامناً: تثبيط الفيروس في البذور:

١ - بالنسبة لدرجات الحرارة قد تستخدم درجات الحرارة العالية في استبعاد الفيروس من

البذور، ولكن أحياناً لا يكون للحرارة العالية تأثير على استبعاد الفيروس فمثلاً في حالة فيروس موزايك القاوون وفيروس موزايك الفاصوليا، على الرغم من عدم تحمل هذين الفيروسين للحرارة العالية في الأنابيب، إلا أن استعمال درجة حرارة عالية عن الدرجة الموقفة للنشاط الباثولوجي فشلت في استبعاد هذه الفيروسات من البذور؛ حيث وجد أن الفيروسات تكون أكثر مقاومة لدرجات الحرارة العالية في البذور الجافة عنها في الأنابيب، وقد يكون سبب ذلك وجود ماء قليل ومحتوى عالٍ من البروتين.

ولقد بذلت محاولات كثيرة لاستبعاد الفيروس من البذرة، وذلك باستخدام درجات حرارة عالية نوعاً لفتترات قصيرة نسبياً.

٢ - باستخدام الطرق الكيميائية لاستبعاد الفيروسات خاصة التي توجد على سطح البذور أو المناطق القريبة من السطح، كما في حالة فيروس موزايك الدخان؛ حيث وجد Taylor et al (١٩٦١) أنه يمكن استبعاد هذا الفيروس من بذور الطماطم بمعاملتها بالتراب صوديوم فوسفات (ص ٣ فوا ٤)، أو باستخراج البذور من الثمار المصابة باستخدام الأحماض المخففة مثل حمض الهيدروكلوريك (يدكل)، أو باستخراج البذور من الثمار بطريقة التخثير.

- ولقد وجد أن مركبات السيتوكينينات لها تأثير مثبط على تضاعف بعض الفيروسات النباتية، وقد وجدت نسبة مرتفعة من هذه المركبات في بذور الذرة، ومن المحتمل أنها تلعب دوراً في مقاومة انتشار بعض الفيروسات في البذور والثمار.

- وقد تستخدم بعض المواد الكيميائية، ومنها المضادات الحيوية في مقاومة بعض الفيروسات، كما في بذور الخيار، أو تستخدم بعض المواد الكيميائية في رش الحقول التي تخصص لإنتاج التقاوى، ومن هذه المواد: 8-azaguanine وكذلك 2-thiouracil.

٣ - كذلك يفقد الفيروس نشاطه بتخزين البذور، فلقد وجد Middleton & Bohn (١٩٥٣) أن فيروس موزايك القاوون muskmelon mosaic virus تنخفض نسبة انتقاله عن طريق البذور من ٩٥% في البذور الطازجة إلى ٥% في البذور المخزنة لمدة ٣ سنوات - كذلك وجد Middleton (١٩٤٤) أنه لا يوجد اختلاف في نسبة انتقال

فيروسات النباتات

فيروس موزيك الكوسة فى بذور الكوسة بعد فترة قصيرة من جمعها، وبعد ٣ سنوات أخرى.

ووجد Fulton (١٩٦٤) أن نسبة انتقال فيروس النيكرورز الحلقي فى الكريز عن طريق البذور ظلت ثابتة من ٦٠-٧٠٪ فى السنين الأربعة الأولى من التخزين على درجة حرارة ٢م°، ولكنها انخفضت لأقل من ٥٪ فى السنة السادسة، ووجد فى هذه الحالة فقداً قليلاً فى حيوية البذور.

وجد أن التخزين لا يؤثر على نشاط فيروسات أخرى فى البذور، حيث وجد Nelson (١٩٣٢) كمية الانتقال نفسها عن طريق البذور فى فيروس موزيك الفاصوليا العادى فى بذور الفاصوليا الطازجة والبذور المخزنة لمدة ٣ سنوات.

ولم تجر دراسات كافية على علاقة محتوى البذرة من الفيروس بحيوية البذرة نفسها، ولكن لا يوجد هناك دليل على أن حيوية البذرة تتأثر بوجود الفيروس.

ولمقاومة الأمراض الفيروسية التى تنتقل عن طريق البذور، يتم إجراء بعض المعاملات، منها:

١ - التخلص من النباتات المصابة فى الحقل مبكراً كلما أمكن ذلك.

٢ - إنتاج بذور خالية من الفيروس واستخدامها فى الزراعة.

٣ - كذلك يمكن مقاومة الانتقال عن طريق البذور بواسطة العوامل الوراثية، التى يمكن الاستفادة منها فى برامج التربية لتقليل أو استبعاد الفيروسات عن البذور فى نباتات محصول معين، حيث يكون النجاح فى مثل هذه البرامج عظيم الفائدة فى مقاومة الأمراض الفيروسية لإنتاج أصناف مقاومة.

تاسعاً: طرق اختبار البذور الحاملة للفيروس:

١ - الفحص الخارجى:

فى حالة الإصابة ببعض الفيروسات كما فى إصابة بذور فول الصويا Soybean mosaic

فيروسات الخبيات

virus قد تظهر التغيرات المرضية فى صورة خطوط ملونة بلون بنى داكن أو أسود، تخرج من منطقة السرة وتحيط بالبذرة فى شكل حزم أو اشعة. وفى الغالب لا تظهر أعراض الإصابة بالأمراض الفيروسية على البذور؛ مما جعل البذور المصابة تبدو مثل السليمة.

٢ - زراعة البذور:

تعقم البذور حتى تموت الكائنات الدقيقة إن وجدت على سطح البذور، ثم توضع البذور فى جو رطب بأن تحضر أطباق بترى بها ورق ترشيح مبلل، ثم توضع البذور بالطبق، وتحضن الأطباق حتى يتم الإنبات، ثم تزرع البذور فى تربة معقمة فى أصص، وتوضع فى الصوبة الزجاجية أو فى مكان معزول عن الحشرات، التى تلعب دوراً مهماً فى نقل الأمراض الفيروسية. وتترك البذور حتى مرحلة الإنبات وظهور الأوراق الثلاثة، التى من المحتمل أن تظهر عليها أعراض الإصابة الفيروسية إن وجدت، وبالتالى يمكن تحديد مظهر الإصابة ونسبة الإصابة.

٣ - الطريقة التشريحية:

وهى مفيدة فى حالة الإصابة بالأمراض الفيروسية، حيث إن الإصابة بالفيروس تحدث تغييرات داخلية بالأنسجة، وعلى ذلك تثبت العينة فى محلول المثبت المناسب، ثم تعمل فيها قطاعات يدوية أو بالميكروتوم، وتصبغ الصبغات المناسبة وتختبر ميكروسكوبياً.

٤ - الطريقة السيرولوجية:

وهى من الطرق المهمة لاختبار الإصابة بالأمراض الفيروسية.

جدول (٨ - ١) : أمثلة الفيروسات التي تنتقل في بذور بعض النباتات .

النسبة المئوية للنقل	النبات العائل المختبر	الفيروس
١-٥ حتى ٦	البرسيم الحجازى	١ - فيروس موزايك البرسيم الحجازى (Alfalfa mosaic virus)
٢-٤٥	الشعير	٢ - فيروس موزايك الشعير (Barley mosaic virus)
٥٨-٩٥	الشوفان	٣ - فيروس الموزايك المخطط فى الشعير (Barley stripe mosaic virus)
٥٠	الفاصوليا	٤ - فيروس موزايك الفاصوليا العادى (Bean common mosaic virus)
٣٧	<i>Vigna sesquipedalis</i>	٥ - فيروس موزايك الخس (lettuce mosaic virus)
٣,١	الخس	٦ - فيروس اصفرار حواف الاوراق فى الفول السودانى (Peanut marginal chlorosis virus)
٣,٣	<i>Senecio vulgaris</i>	٧ - فيروس تبرقش الفول السودانى (Peanut mottle virus)
٣٠-١٠٠	الفول السودانى	٨ - فايرويد الدرنه المغزلية فى البطاطس (Potato spindle tuber viroid)
٢	الفول السودانى	٩ - فيروس موزايك فول الصويا (Soybean mosaic virus)
٢-١١	الطماطم	١٠ - فيروس موزايك الكوسة (Squash mosaic virus)
٨٧-١٠٠	البطاطس	١١ - فيروس موزايك الدخان (Tomato mosaic virus)
٦٨-صفر	فول الصويا	<i>Vitis</i> spp.
(١-١٨)	فول الصويا	١٢ - فيروس الذبول المبقع فى الطماطم (Tomato spotted wilt virus)
٦,٢-٢٠	الشمام	١٣ - فيروس موزايك الخيار Cucumber mosaic virus
٢,٢	الكوسة	
١,٥	البطيخ	
٢٢	الفلفل	
٢	الطماطم	
٢٠	العنب	
حتى ٩٦	<i>Senecis cruentus</i>	
(اثر)	الخيار	
٩,١	الخيار البرى	
٠,٢	الطماطم	
٤-٨	اللوبياء	

خامساً: الانتقال عن طريق التربة: Soil transmission

تنتشر بعض الأمراض الفيروسية خلال التربة؛ أى إن الإصابة تحدث فى أجزاء النبات تحت سطح التربة. فى هذه الأمراض لا يعرف لها ناقل آخر عن طريق إصابة الأجزاء الخضرية، ويطلق على هذه المجموعة من الفيروسات بالفيروسات المحمولة فى التربة، ويمكن تعريف هذه المجموعة بأنها: «تنتشر انتشاراً طبيعياً تحت سطح التربة، ولا تعتمد فى إصابة النبات على تلامس أنسجة النبات المصاب بأنسجة النبات السليم»؛ أى إن انتقال وانتشار الفيروسات عن طريق التربة إما لوجود الفيروس فى التربة ودخوله إلى أنسجة النبات عن طريق الجروح، أو أن يحمل أو ينتقل إلى أنسجة النبات بواسطة بعض الكائنات الدقيقة مثل الفطر والبكتيريا، والحيوانات مثل النيماتودا، وبعض الحشرات مثل بعض أنواع المن التى تصيب الجذور.

وكان أول دليل على انتقال أحد الفيروسات عن طريق التربة هو ما قام به Beijerinck سنة ١٨٩٨، عندما زرع نباتات دخان سليمة فى تربة مأخوذة من حول جذور نبات دخان مصاب بفيروس تبرقش الدخان (TMV) فحدثت الإصابة. وكذلك دلت تجارب Smith سنة ١٩٣٧ على أن فيروس نيكروزيس الدخان Tobacco necrosis virus ينتقل من التربة الملوثة إلى جذور نبات الدخان البرى *N. glutinosa*، ولكن هذا الفيروس لا يتحرك فى الساق إلى أجزاء النبات الموجودة فوق سطح التربة. وحديثاً ثبت أن نوعاً معيناً من فيروسات موزايك القمح يمكنها أن تصيب القمح من خلال التربة الملوثة. وقد وجد McKinney سنة ١٩٣٧ أن موزايك القمح يظهر عندما يزرع القمح فى تربة ملوثة، ويمكن منع الإصابة بمعاملة التربة بالفورمالين، والتربة النظيفة يمكن تلويثها بخلطها بتربة ملوثة، وليس بخلطها بأوراق من نبات القمح المصاب. وقد وجد أن الفيروس أكثر انتشاراً فى التربة الثقيلة عن التربة الخفيفة، وقد ذكر أن الفيروس يعيش فى بعض الأنواع المناسبة من التربة إلى أكثر من ٩ سنوات.

وينتقل فيروس انتفاح العروق فى الخس *Bigvein virus* أيضاً خلال التربة، ويشبه فيروس موزايك القمح فى عدة نواح؛ حيث إنه أكثر انتشاراً فى التربة الثقيلة عن التربة

فيروسات الذبذبات

الخفيفة، ويزداد وجوده مع زيادة رطوبة التربة، ويبقى الفيروس لمدة أكثر من سنة، ويمكن منع الإصابة بتعقيم التربة بالتبخير.

وتحتوى مجموعة الأمراض الفيروسية التى تنتقل وتنتشر عن طريق التربة على أكثر من ٢٠ فيروسا، إلا أنه توجد أمراض فيروسية كثيرة لا يعرف طرق انتقالها وانتشارها، ومن المحتمل أن تكون من ضمن هذه المجموعة بعض الفيروسات التى تنتقل عن طريق التربة، هذا بالإضافة إلى أن بعض الفيروسات التى يعرف طرق انتقالها وانتشارها قد تنتقل وتنتشر أيضاً، باستخدام إحدى وسائل طرق الانتقال تحت سطح التربة.

ويمكن تلخيص طرق الانتقال والانتشار عن طريق التربة فى الآتى:

١ - الانتقال بواسطة النيماتودا:

لوحظ أن بعض الأمراض الفيروسية تظهر على النباتات فى الحقل كمجموعات من النباتات المصابة فى أماكن متفرقة فى الحقل، وقد وجد أن هذه الأماكن تحتوى على نيماتودا مما جعل البحث يتجه لمعرفة مدى علاقة هذه النيماتودا وانتشار تلك الأمراض الفيروسية. وقد تمكن Hewitt et al سنة ١٩٥٨ من إثبات أن مرض Grapevine fan leaf يمكنه أن ينتقل من نبات عنب مصاب بالمرض إلى نبات سليم، كليهما مزروع فى وعاء واحد، إذا أضيف إلى التربة النيماتودا الخنجرية *Xiphinema index*. ولكن لا ينتقل المرض إلى النبات السليم، إذا تركت النباتات المصابة والسليمة أى مدة دون إضافة هذه النيماتودا. ومعروف حالياً حوالى ٢٠ نوعاً species من النيماتودا تعمل كناقلات للفيروسات النباتية.

ومن الفيروسات الأرضية مجموعتان فقط هى التى ثبت حتى الآن انتقال بعض سلالاتها بواسطة النيماتودا. وهى الفيروسات المتساوية الأبعاد (كروية):

١ - مجموعة فيروسات التبقع الحلقى: (RSV) Nepoviruses: Ring spot viruses

ومنهما فيروس الورق المروحي فى الكروم (GFV) وتنقله النيماتودا الخنجرية *Xiphinema index* وفيروس التبقع الحلقى فى القرنفل CrRSV، وتنقله النيماتودا الخنجرية من نوع

X. diversicaudatum وفيروس التبغ الحلقي في الطماطم (TRSV) ، وتنقله النيماتودا الخنجرية من *X. americanum* وغير ذلك من فيروسات أخرى .

٢ - مجموعة فيروسات القرقة أو الخشخشة (TRV) *Rattle viruses* :

أيضاً فيروسات التوبرا (عصوية) ، وتنتقل سلالات هذه المجموعة بالنيماتودا القاصفة من نوع *Trichodorus pachydermus* وكذلك أنواع *T. primiticus* ، *T. viruliferus* و *T. christie* وهي فيروسات عديدة العوائل ، وتنتشر في كثير من النباتات والأبصال والدرنات .

ويوجد جنس ثالث من النيماتودا وهو *Longidorus* ، وله علاقة بنقل بعض الأمراض الفيروسية الكروية الشكل ، ففيروس الحلقة السوداء في الطماطم (TBRV) والتبغ الحلقي في توت الأرض تنقله النيماتودا *L. elongatus* ، ويقع الجنسان *Xiphinems* and *Lon-* *gidorus* في العائلة *Dorylaimidae* ، أما الجنس *Trichodrus* فيقع في العائلة *Tylenchi-* *dae* .

جدول (٨-٢) : فيروسات النبات التي تنتقل بواسطة النيماتودا .

الناقل	الفيروس
Nepoviruses	أولاً : الفيروسات المتساوية الأبعاد (كروية) :
<i>Xiphinema americanum</i>	فيروس التبغ الحلقي في الطماطم (Tomato ringspot virus)
<i>X. americanum</i>	فيروس التبغ الحلقي في الدخان (Tobacco ringspot virus)
<i>X. coxi and X. diversicaudatum</i>	فيروس موزيك الارابيس (Arabis mosaic virus)
<i>X. coxi and X. diversicaudatum</i>	فيروس التفاف أوراق الكرز (Cherry Leaf roll virus)
<i>X. diversicaudatum</i>	فيروس التبغ الحلقي في القرنفل (Carnation ring spot Virus)
<i>X. diversicaudatum</i>	فيروس موزيك البروم (Brome mosaic virus)
<i>X. index and X. italia</i>	فيروس الورقة المروحية في العنب (Grape vine fanleaf virus)
<i>Longidorus attenuatus and L. elongatus</i>	فيروس الحلقة السوداء في الطماطم (Tomato black ring virus)
<i>L. elongatus and L. macrosoma</i>	فيروس التبغ الحلقي في توت الأرض «الشليك» (Raspberry ringspot virus)
Tobraviruses'	ثانياً : فيروسات التوبرا (عصوية) :
<i>Trichodarus spp (as) T. christiei</i>	
<i>T. teres, T. nanus, T. pachydermus</i>	فيروس خشخشة الدخان (Tobacco rattle virus)
<i>T. anemones, T. teres, T. viruliferus</i>	
<i>T. pachydermus, T. teres, T. anemones,</i>	فيروس التلون البني المبكر في البسلة (Pea early browning virus)
<i>T. viruliferus.</i>	

خواص النيماتودا الناقلة للفيروسات :

أ - طريقة التغذية: إن الثلاثة أجناس من النيماتودا المعروفة بنقلها للأمراض الفيروسية لها رمح طويل، إلا أن النيماتودا التي لم يثبت حتى الآن أنها لا تنقل أمراضاً فيروسية لها مثل هذه الخاصية، كذلك اقترح أن الغدة اللعابية الظهرية في النيماتودا الناقلة تفتح بالقرب من اتصال البلعوم بالأمعاء، أما في النيماتودا الناقلة مثل أجناس العائلة Tylen-chidae فإن الغدة اللعابية تفتح في تجويف البلعوم. ومن غير المؤكد حتى الآن إذا ما كان هذا الاختلاف له أى دخل في قابلية النيماتودا في نقل الفيروس أم لا .

ب - انتقال الفيروس: ليس من المعروف حتى الآن المدة اللازمة للنيماتودا للتغذية على العائل المصاب حتى يمكنه أن يكتسب الفيروس وينقله، إلا أنه وجد أنه يكفى تغذية ليوم واحد على العائل المصاب و ٣ أيام على النبات السليم؛ حتى يمكن لفيروس *Arabis mosaic* أن ينتقل بواسطة النيماتودا الناقلة له وهما *Xiphinema diversicaudatum* أو *X. paraelongatum* ، وكذلك وجد أنه يكفى يوم واحد تغذية على النبات السليم لكى يصاب بفيروس *Grapavine fan leaf* ، والذي ينقل بواسطة *X. index* كما وجد أن إضافة معلق فيروس *Tomato black ring* للتربة المنزوعة بها نباتات طماطم سليمة، وبها النيماتودا الناقلة *Longidorus attenuatus* فإنه لا تحدث إصابة بالفيروس، إلا أن الإصابة تحدث عندما تزرع نباتات مصابة فى الوعاء نفسه الذى به النباتات السليمة. وبالعكس يمكن لفيروس *Tobacco necrosis* أن يصيب النباتات بإضافة معلق من الفيروس إلى التربة. ولا يعرف حتى الآن إذا كانت للفيروس مدة حضانة فى النيماتودا الناقلة أم أنها تنقله مباشرة.

ج - مدة بقاء الفيروس فى النيماتودا: تختلف مدة بقاء أو حمل النيماتودا للفيروس من فيروس لآخر، وهذه تتراوح ما بين ١-٨ شهور، وهى مدة طويلة تبقى النيماتودا قادرة على إصابة النباتات دون أن تتغذى خلال هذه الفترة على نبات مصابة. وقد وجد أن فيروس *Tobacco rattle* يمكنه أن يبقى فى *T. pachydermus* حتى بعد تجرعها لمدة ٣٦ يوماً. كما أن فيروس *Grapevine fan leaf* يمكنه أن يبقى داخل النيماتودا

X.index مدة ٤ شهور، دون أن تتخذى على العائل المصاب .

د - الاحتفاظ بالفيروس بعد الانسلاخ: ليس من المعروف حتى الآن هل تحتفظ جميع النيماتودا بالفيروس بعد الانسلاخ كما يحدث مع المن الناقل للفيروسات الباقية أم لا . إلا أنه وجد أن بعض النيماتودا تفقد الفيروس بعد الانسلاخ، وقد يرجع ذلك إلى أن الطبقة الخارجية من الرمح تنسلخ أثناء تلك العملية .

هـ - أطوار النيماتودا الناقلة للفيروس: تعتمد هذه الخاصية غالباً على الفيروس نفسه، فنجد أن يرقات *L.elongatus* يمكنها أن تنقل فيروس الحلقة السوداء *Tomato black ring*، ولا يمكن للطور البالغ أن ينقله، وبالعكس فإن النيماتودا نفسها يمكنها أن تنقل فيروس *Raspberry ring spot virus* بواسطة كل من اليرقة والطور البالغ .

و - انتقال الفيروس إلى بيض النيماتودا: لا يوجد ما يدل على أن الفيروسات تنتقل من جيل إلى جيل في النيماتودا النافذة للأمراض الفيروسية .

ز - الكشف عن الفيروس في النيماتودا: يمكن الكشف عن الفيروس في النيماتودا، وذلك بطحن أفراد من النيماتودا الحاملة للفيروس في نقطة ماء، ثم تلقيح نباتات اختيار بالمعلق؛ حيث إن الفيروسات التي بالنيماتودا تنتقل جميعها بالتلقيح الميكانيكي .

ح - تخصص النيماتودا في نقل الفيروسات: وجد أن هناك تخصصاً كبيراً بين الأنواع المختلفة من النيماتودا في نقلها للأمراض الفيروسية؛ فالإصابة بفيروسات *Tomato black ring & Raspberry ringspot* تكون دائماً في وجود أنواع *Longidorus spp.* بينما في حالات فيروسات *Tobacco ring spot & Arabis mosaic* توجد في *Xiphinema spp.*

٢ - الانتقال بواسطة وبمساعدة الفطريات :

Transmission of plant viruses by Fungi

اكتشفت الفطريات كناقلات لفيروسات النبات لأول مرة عام ١٩٥٨، حيث سجل

Grogan et al, 1958 علاقة مرض انتفاخ العروق في الخس Lettuce big-vein disease بالفطر *Olpidium brassicae* وبعد ذلك سجل تيكال (١٩٦٠) Teakle علاقة فيروس نيكروزيس الدخان Tobacco necrosis بالفطر نفسه. وقد سجل أيضاً في السنة نفسها (١٩٦٠) Hidaka علاقة فيروس تقزم الدخان Tobacco stunt بالفطر السابق ذكره.

وخلال الخمسة عشر سنة التي تلت ذلك الاكتشاف، زاد عدد الفيروسات إلى تسعة (٩)، وارتفع عدد الفطريات التي تقوم بنقلها إلى ستة (٦) فطريات (كما هو موضح في الجدول (٨ - ٣)).

وتختلف الفيروسات التي تنتقل بواسطة الفطريات فيما بينها في الشكل والحجم، مثل:

١ - الفيروسات المكورة (Polyhedral) (مثل):

Cucumber necrosis virus, Tobacco necrosis virus,
Tobacco stunt virus, Satellite virus.

٢ - الفيروسات العصوية مثل:

Potato virus X, Wheat mosaic virus

ويلاحظ أن هناك بعض الفيروسات، التي تنتقل بالفطريات غير معروفة الشكل حتى الآن مثل:

Lettuce big vein virus, pea false roll virus.

ويمكن نقل بعض هذه الفيروسات بالتلقيح الميكانيكي (بالعصارة) بسهولة، مثل: فيروس X البطاطس وفيروس نيكروزيس الخيار والدخان. أما بالنسبة لفيروس موزايك القمح وفيروس تقزم الدخان فتنتقل بصعوبة بالتلقيح الميكانيكي. أما فيروس انتفاخ العروق في الخس، فإنه لا ينتقل بالتلقيح الميكانيكي.

جدول (٨ - ٣) : بعض خواص الفيروسات المنقولة بواسطة المطريات والمطريات الناقلة.

اسم الفيروس	المضيف	النقل	درجة الحرارة المثلى (م)	القدرة على التكاثر	المطر الناقل
نيكروزيس الدخان	(TNV)	سهل	٨٠-٩٥	عدة أسابيع	Olipidium brassicae
الفيروس المصاحب	SATALLITE	سهل	٩٠-٩٥	عدة سنوات	Olipidium brassicae
تضخم العرق في الخس	LBVV	غير معروف	-	-	Olipidium brassicae
تقرح الدخان	TSV	-	-	-	Olipidium brassicae
نيكروزيس الخیار	CNV	سهل	٧٥-٨٠	أسابيع	Olipidium cucurbitacearum
فيروس X البطاطس	PVX	سهل	٧٠	أسابيع	Synchytrium endobioticum ¹
فيروس موس ترب البطاطس	PMTV	-	٥٥-٦٠	-	Spongospora subterranea
التفاف أوراق البسلة	PeLRV	-	٧٥-٨٠	أيام قليلة	Pythium ultimum
موزايك المسح	WaMV	بعضية	٥٥-٦٠	-	Polyomyxa graminis

و هناك بعض الفيروسات التي يعتقد انها تنتقل من طريق التربة ومساعدة فطريات أيضا، وهي في ٣ مجموعات [كاسيل (١٩٨٠)]

- أ - المجموعة الأولى
- ب - المجموعة الثانية
- ج - المجموعة الثالثة

العلاقات بين الفيروسات والفطريات الناقلة لها :

تنتمى الفطريات التى تنقل الفيروسات السابق ذكرها إلى ٣ ثلاثة صفوف Classes هي :

1. Chytridiomycetes; *Olpidium brassicae*, *O. cucurbitacearum*, *Synchytrium endobioticum*.
2. Plasmodiophoromycetes: *Polymyxa graminis*, *Spongospora subterranea*.
3. Oomycetes: *Pythium ultimum*.

وتمر جميع هذه الفطريات أثناء نموها فى ثلاث مراحل؛ حيث إنها تنتج جراثيم هدية، سواء كان ذلك عن طريق التكاثر الجنسي أو اللا جنسى zoospores. ولهذه الجراثيم المتحركة القدرة على نقل الفيروسات. وهذه الفطريات عادة طفيليات إجبارية، تصيب الجذور - ومن الفطريات الدنيعة غير المتطورة الممرضة سواء (تمتلك القدرة المرضية) أو طفيليات بسيطة؛ فهي تنتج جراثيم هدية ذات سوط أو سوطين عادة. وهذه الجراثيم تتحوصل، وتصيب خلايا العائل.

خواص الناقلات الفطرية :

يمكن تلخيص بعض الملاحظات العامة على طبيعة العلاقة بين الفطر الناقل والفيروس فيما يلى :

- ١ - توجد درجة عالية من التخصص مع الأنواع الأخرى من الناقلات، فالفيروس الذى ينتقل بواسطة الفطر، لا يمكن أن ينتقل بأى نوع أو نموذج آخر من الناقلات؛ والفيروس الواحد ينتقل بواسطة نوع واحد من الفطر الناقل.
- ٢ - هذه الفيروسات تصيب وتتضاعف فى العائل، ولا يحدث ذلك تقريباً فى الفطر.
- ٣ - إن الفيروس والجراثيم الهدبية للفطر zoospore ينطلق كل منها مستقلاً عن الآخر من جذور العائل المصاب.

٤ - وجد من تجارب الاكتساب Acquisition في المعمل أن الفيروس قد يوجد داخل الجراثيم الهدبية، أو يرتبط ارتباطاً وثيقاً بهما، ولا يوجد الفيروس في هيفات الفطر الناقل، وقد أظهرت الدراسة باستخدام الميكروسكوب الإلكتروني على الجراثيم الهدبية حيث يلتصق بها الفيروس جزئياً كما في الفيروس TNV، وبلا شك فالخطوات الأخرى في عملية النقل تتضمن حركة الفيروس خلال بروتوبلاست الجراثيم الهدبية أثناء أو بعد تحوصلها، ثم تتحرر بعد إصابة بروتوبلاست الجراثيم الهدبية لخلية العائل.

كما وجد أن فطر *Olpidium spp.* يساعد في نقل فيروسين هما *Big-vein of lettuce* و *Tobacco necrosis* وغيرهما، وهذا الفطر من مجموعة الفطريات الأولية، وهي تكون داخل خلايا جذور العائل - وخصوصاً القرية من القشرة - أكياساً جرثومية *Zoosporangia*، وهذه يخرج منها إلى التربة جراثيم *zoospores* عن طريق أنابيب، تصل إلى خارج أنسجة العائل. ثم تقوم هذه الجراثيم ذات الهدب الواحد في الماء المحيط بالجذور، ثم تصيب خلية جذرية بعد سحب الهدب، ثم تكون كيساً جرثومياً داخل الخلية. ومن غير المعروف حتى الآن إذا كان هذا الفطر يساعد على دخول الفيروس عن طريق الجرح الذي يحدثه، أم أنه يحمل الفيروس بداخله. ولكن هناك نتائج تجريبية قد تلقى ضوءاً على هذا السؤال، بأن إضافة مصل مضاد لفيروس نيكريزيس الدخان *Tobacco necrosis* إلى معلق هذا الفيروس خمسة دقائق، قبل إضافة المعلق الجراثيم إلى خليط الفيروس والمصل المضاد له.. لا تحدث أي إصابة للنباتات. وبالعكس.. فإن إضافة المصل بعد خمس دقائق من إضافة الجراثيم إلى معلق الفيروس، فإن الإصابة تحدث مما يجعل احتمال نفاذ الفيروس إلى داخل الجرثومة أمراً محتملاً جداً، بناء على رأى *Teakle and Gold* سنة ١٩٦٣.

٣ - الانتقال عن طريق التربة بواسطة طرق غير معروفة:

وهذه تنقسم إلى قسمين:

١ - مجموعة الفيروسات التي يعتقد أن هناك كائنات دقيقة (كالفطريات) في التربة تساعد على إصابة النباتات بالفيروس، مثل فيروسات تبرقش القمح الأصفر والتخطيط الأصفر للقمص *Sugar cane chlorotic streak*، وكذلك الموزايك الأصفر للشعير *Barley*

ب - مجموعة الفيروسات التي يعتقد أنه لا لزوم لوجود ما يساعد على الإصابة بالفيروس مثل فيروس تبرقش الدخان، وعلى العموم فإنه يعتقد أن هذا الفيروس لا يحدث الإصابة للجذور، بل تحدث الإصابة خلال جروح على الساق، وتصلها العدوى من مياه الري المحملة بالفيروس الموجود بالتربة.

الفيرس والتربة: Virus Ecology

أ - مدة بقاء الفيروس في التربة:

تعتمد مدة بقاء الفيروس في التربة على علاقة الفيروس، وكذا الكائن الذي نقله (في حالة وجود كائن ينقل الفيروس)، وذلك بالعوائل المنزرعة، وكذلك علاقة الفيروس بالكائن الناقل له. وعلى العموم يمكن القول أن معظم الفيروسات التي تنتقل عن طريق التربة تبقى مدة طويلة في التربة الموجودة بها للأسباب التالية:

١ - معظم الفيروسات التي تنتقل بواسطة النيماتودا، وكذا النيماتودا الذي ينقلها لها عوائل كثيرة، ومن ضمنها الحشائش؛ مما يعطي للفيروس وكذا النيماتودا الفرصة للبقاء في التربة مدة طويلة جداً.

٢ - يمكن للنيماتودا أن تبقى مدة طويلة في التربة غير المزروعة، وقد أمكن حفظ النيماتودا مدة عامين في تربة رطبة داخل كيس بلاستيك.

٣ - يبقى الفيروس مدة طويلة داخل النيماتودا، وقد وجد أن فيروس Grapevine fan leaf يبقى على الأقل ٤ شهور داخل *X. index*.

٤ - وما يساعد على بقاء التربة حاملة للفيروس مدداً طويلة، هو انتقال بعض الفيروسات عن طريق البذور وبقاء هذه البذور وإنباتها في التربة نفسها، ووجود مصدر للفيروس في التربة، كذلك فإن بعض جذور النباتات الخشبية تبقى حية مدداً طويلة، قد تصل إلى سنتين في حالة العنب، وذلك بعد تقطيع النباتات.

٥ - يمكن للنيماتودا مواجهة الظروف الطبيعية القاسية مثل الجفاف أو البرودة التي تحدث

غالباً في الطبقات السطحية للتربة بأن تهاجر إلى الطبقات السفلية حيث تعيش، ثم ترجع ثانية إلى الطبقات السطحية عند انتهاء الظروف غير المواتية.

أما في حالة الفطر *Olpidium* . فإن طور الراحة *Resting sporangia* تكون غالباً حاملة لفيروس *Big-vein of lettuce*، وهذا الطور يمكن أن يبقى في حالة حية عدة سنوات، وبذلك فإن الفيروس يمكن أن يصيب الخس بعد عدة سنوات عن طريق هذا الفطر.

ب - توزيع وانتشار الأمراض الفيروسية في الحقل:

عند دخول أحد الفيروسات التي تنتقل بواسطة التربة إلى الحقل لأول مرة (إما عن طريق البذور أو الدرنات الحاملة للفيروس أو مع الشتلات) فإن توزيع الفيروس وانتشاره يكون غالباً محدداً في مناطق متفرقة صغيرة، ثم ينتشر توزيعه على مدى السنين. وهناك عدة عوامل تؤثر على توزيع انتشار تلك الفيروسات:

١ - بعض الأمراض الفيروسية التي تنتقل بواسطة فطر مثل *Big-vein of lettuce* أو الفيروسات، التي يحتمل أن تنتقل بواسطة كائنات دقيقة مثل فيروس تبرقش القمح أو فيروس التخطيط الأصفر في القصب، فإن هذه الفيروسات تنتشر بسرعة جداً في الحقل ذات التربة الثقيلة، والتي بها نسبة عالية من الرطوبة، ويرجع ذلك غالباً إلى زيادة نشاط الفطريات الناقلة للفيروس. أما بالنسبة للفيروسات التي تنتقل بواسطة النيماتودا، فإنها تنتشر غالباً في الأراضي الخفيفة؛ حيث تنشط وتتكاثر معظم النيماتودا بسرعة فائقة.

٢ - توزيع النيماتودا في الأعماق المختلفة للتربة، وهذا العامل يؤثر خصوصاً عند مقاومة النيماتودا بتبخير التربة، فمن المعروف أن أكبر عدد للنيماتودا لا يكون في الـ ١٠ سم السطحية للتربة، بل يكون غالباً على عمق ١٥-٢٠ سم من سطح التربة، وتختلف أعداد النيماتودا في الأعماق المختلفة، ولكن غالباً تتواجد بعض الأفراد على عمق ١٠٠ سم، وقد تتواجد على عمق ٣٠٠ سم مع *X.index*.

٣ - انتقال بعض التربة من مكان لآخر أثناء العمليات الزراعية أو بالرياح، وكذا تحرك الماء

الأرضي يساعد على انتشار الكائنات الناقلة للفيروس، والفيروس من مكان لآخر في الحقل. كذلك يساعد استخدام أدوات زراعية عليها تربة ملوثة بالكائنات الحاملة للفيروس في أرض نظيفة منها على انتشار تلك الفيروسات.

٤ - موافقة الظروف الطبيعية للتربة على تكاثر الكائنات الحاملة أو الناقلة للفيروس، التي تلوث التربة لأول مرة قد تجعل الإصابة تنتشر بشكل وبائي خلال عدة سنوات.

٥ - بعض النيماتودا الناقلة للفيروسات مثل *T.teres & T.christiei* تتوالد بكرياً *Parthenogenetically*، ولكن بعض الأنواع يلزمها تواجد ذكور وإناث للتكاثر، ولذلك فإن الأنواع التي تتوالد بكرياً تزداد في العدد بسرعة، وبالتالي تظهر الإصابة بالفيروسات، وتنتشر بسرعة خلال عدة سنوات في الحقول النظيفة، عند إدخال بعض أفراد من هذه الأنواع وتلوث التربة بها لأول مرة.

٦- الانتقال بواسطة الحشرات : *Transmission by insects*

تعتمد معظم الفيروسات على نشاط الحشرات في انتقالها، وأنه من الأهمية الكبرى للانتشار السريع لاي فيروس، أن تكون الظروف الجوية ملائمة للتكاثر السريع للحشرة الناقلة وملائمة كذلك لحركتها. وهناك عامل مهم للانتشار السريع للفيروسات النباتية، وهو الظروف البيئية التي ينمو تحتها النبات، حيث إن الظروف البيئية الملائمة تساعد على نمو النبات السريع، وبالتالي فإن النباتات السريعة النمو تكون لها قابلية عالية للإصابة.

وقليل من الفيروسات لا ينتقل بواسطة الحشرات مثل فيروس تبرقش الدخان وفيروس X البطاطس، وفيروس تقزم الخلفة في القصب، فهي لا تنتقل إلا بواسطة العصارة. كذلك نجد أن معظم فيروسات الموالح لا ينتقل إلا عن طريق التطعيم، ولا ينتقل بواسطة الحشرات مثل فيروس القوباء *Psorosis* وفيروس تلون قلف اليوسفي *Cachexia*، وفيروس تنقر خشب الليمون الحلو، أما معظم الفيروسات فهي تعتمد على الحشرات لنقلها ونشرها.

والحشرات التي تنقل الأمراض الفيروسية تكون في الغالب من ذات أجزاء الفم الشارب الماص؛ حتى يمكنها أن تمتص عصارة النباتات، التي تحتوي على الفيروس، ثم تنقلها ثانية

إلى النباتات السليمة أثناء تغذيتها عليها. ولو أنه من غير المعروف بالضبط ماذا يحدث للفيروس داخل الحشرة، إلا أنه يعتقد أن الحشرات لا تنقل بعض الفيروس على أجزاء فمها، أو بمعنى آخر أن الفيروس يجب أن يدخل الحشرة ثم يفرز مع اللعاب ثانية.

وهناك قليل جداً من الفيروسات يمكنها أن تنتقل بواسطة حشرات ذات فم قارض، وذلك لتلوث أجزاء الفم بالفيروس أثناء تغذيتها على العائل المصاب، ثم انتقاله إلى العائل السليم، ويعتقد أن معظم الأمراض الفيروسية التي تنتقل عن طريق العصارة لا تنتقل على أجزاء فم الحشرات القارضة، وذلك يرجع غالباً إلى أن تلك الحشرات تسبب موت الخلايا على حواف الأوراق التي تغذى عليها الحشرات؛ مما يجعل الفيروسات لا تتمكن من الدخول إلى الأنسجة الداخلية، فنجد مثلاً أن فيروس تبرقش الدخان - وهو من الفيروسات التي يمكنها أن تتحمل الظروف بدرجة عالية - لا يمكنه أن ينتقل بواسطة هذا النوع من الحشرات، ومن الفيروسات التي تنتقل بواسطة تلك الحشرات، هو فيروس التبرقش الأصفر للفت *Turnip yellow mosaic Virus*، وكذلك فيروس الدرنات المغزلية في البطاطس *Potato spindle tuber viroid*، التي تنتقل بواسطة بعض خنافس الورق وبعض الجراد، وهذان الفيروسان مختلفان في طرق انتقالهما، فنجد أن الأول لا ينتقل بواسطة الحشرات ذات الفم الشارب الماص، أما الثاني فيمكن أن ينتقل بواسطة المن، بجانب انتقاله بواسطة الحشرات ذات الفم القارض. ومن المعروف حالياً حوالي ٤٠٠ نوع من الحشرات تقوم بنقل أكثر من ٢٠٠ نوع من الفيروسات المعروفة. وتعتبر حشرة المن من أهم هذه الحشرات.

والحشرات ذات أجزاء الفم الماص، والتي تنقل فيروسات النبات، هي:

١ - المن *Aphididae*: ويعتبر المن أكبر مجموعة من الحشرات، التي تنقل الفيروسات سواء من جهة عدد الفيروسات التي تنقلها، أو من جهة عدد أنواع المن الناقلة، فهذه المجموعة تنقل حوالي ١٠٠ فيروس من الفيروسات النباتية المعروفة حتى الآن. وتنقل حشرة المن *Myzus persicae* أكثر من ٧٠ فيروساً، ومعظم الفيروسات التي تنتقل بواسطة المن تسبب أعراض موزايك، إلا أن بعض الفيروسات التي تنتقل بواسطة المن وتسبب اصفراراً مثل اصفرار بنجر السكر *Sugar beet yellows* والتقرم الأصفر في البصل

. Onion yellow dwarf

٢ - نطاطات الأوراق **Leaf hoppers**: تنقل عدداً من الفيروسات النباتية مثل فيروس تجعد قمة بنجر السكر، فيروس التورم الجرحى في البرسيم، فيروس تقزم الارز **Rice stunt**. وتعتبر نطاطات الاوراق من أهم المجاميع الحشرية بعد حشرات المن في الأهمية فى نقل فيروسات النبات فى الطبيعة، وتسبب عادة **leafhopper**، ونطاطات الاوراق أمراض التفاف الاوراق والإصفرار، وأن القليل من هذه الفيروسات فقط ينتقل ميكانيكياً.

٣ - بق النبات **Miridae**: وهى من الحشرات التى لم يثبت أنها تنقل الفيروسات بنشاط، ويوجد نوع ثبت نشاطه فى نقل فيروس **Bect savoy**، وهو **Piesma cinereum**.

٤ - الذبابة البيضاء **Aleurodidae**: ويوجد ١٤ نوعاً من الذباب الابيض، الذى ينقل أكثر من ٢٠ فيروساً، مثل: فيروس تجعد ورق القطن فى السودان **Cotton leaf curl**، وفيروس تجعد ورق الدخان، وفيروس تجعد الاوراق الاصفر فى الطماطم.

٥ - الحشرات القشرية والبق الدقيقى **Coccoidae**: ومن المعروف حتى الآن أن البق الدقيقى **mealy bugs** هو الذى يقوم بنقل الامراض الفيروسية من هذه المجموعة من الحشرات؛ فهى تنقل الساق المتضخم فى الكاكاو **Cocoa Swollen shoot** بواسطة الحشرة **Planocides njalensis**.

٦ - التريسي **Thysanoptera**: وهو ينقل فيروساً واحداً وهو فيروس الذبول المبقع فى الطماطم.

٧ - الحشرات ذات الفم القارض **Orthoptera**: والتى تنقل بعض حشرات هذه المجموعة **CMV**، كما أن بعض أنواع جراد الحشائش **Grass hoppers** ينقل فيروس التبرقش الاصفر للفت **Turnip yellow mosaic**، وكذا فيروس الدرنه المغزلية فى البطاطس **Potato spindle tuber**، وفيروس X فى البطاطس.

٨ - الخنافس *Coleoptera*: وهي تنقل بعض الفيروسات، مثل: فيروس موزايك اللوبيا وموزايك الفاصوليا وموزايك الكوسة وموزايك الفجل، وتلون بذور القول.

أهمية حشرات الذباب الأبيض في نقل فيروسات النبات:

توجد الأمراض التي تنقلها حشرات الذباب الأبيض أساساً في البلدان الاستوائية وشبه الاستوائية وأيضاً في البلدان المعتدلة. وأصبحت الأمراض التي ينقلها الذباب الأبيض ذات أهمية على محاصيل البقوليات والطماطم والقطن والشطة في مناطق مختلفة من العالم.

وهناك ثلاثة أنواع من الذباب الأبيض، وهي:

Bemisia tabaci, *Trialeurodes vaporariorum* and *T.abutilonia* معروفة بنقلها

للفيروسات النباتية. ولقد وضع كوستا (١٩٧٦) *Costa* الأمراض التي تنقلها حشرات الذباب الأبيض في مجموعات، هي:

أ - الموزايك.

ب - تجمع الأوراق.

ج - أنواع الاصفرار.

وتسبب الأمراض الفيروسية التي تنقلها الذباب الأبيض خسارة جسيمة لكثير من المحاصيل حيث تتراوح الخسارة من ١٠-٩٥٪، كما في الهند، عندما يوجد فيروس تجمع أوراق الطماطم. ينتقل الفيروس بالتطعيم والذبابة البيضاء *B.tabaci* ويشتمل المدى العائلي له عوائل كبيرة، منها: الدخان - البطاطس - الداتورا - الدخان البري - الباميا. وبعض هذه الفيروسات أمكن نقلها أيضاً ميكانيكياً.

يعتبر الذباب الأبيض من الناقلات المهمة جداً للفيروسات التي تسبب أمراضاً مهمة على المحاصيل الاقتصادية، التي تزرع في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية مثل البقوليات والقطن والكسافا والدخان والطماطم؛ حيث تنقل فيروسات مرض تجمع أوراق الدخان *To-bacco leaf curl*، وغيره من الأمراض المذكورة في الجدول (٨ - ٤). وتدل التجارب التي

أجرهما فارما Varma بأن الحشرة الواحدة من *B.tabaci* قد تحمل وتنقل فيروسين مختلفين عن بعضهما في آن واحد . ويعتقد بأن هذه الحشرات غالباً ما تحتفظ بقدرتها على نقل الفيروسات طوال فترة حياتها . وقد تكون الإناث أكثر كفاءة بكثير من الذكور في نقل الفيروسات . كل من الحشرات والحواريات تتمكن من أخذ الفيروسات من النبات المصاب ، ونقلها إلى النبات السليم . وتدل المعلومات المتوفرة عن مسببات الأمراض ، التي تنتقل بواسطة الذباب الأبيض أن هذه الحشرات تحتاج إلى فترة تغذية بين ٥٠-٢٤٠ دقيقة لأخذ المسببات من النبات المصاب ، وتحتاج إلى فترة كامنة تتراوح بين ٤-٨ ساعات لتصبح قادرة على نقل الفيروس . كما تحتاج لفترة تغذية ١٠-١٢٠ دقيقة لنقل المسبب المرضى . ومن ذلك يستدل بأن طبيعة العلاقة بين الذباب الأبيض والفيروسات التي تقوم بنقلها ، هي أقرب ما تكون إلى الفيروسات التي تمر من قناة الهضم إلى الدم *circulative virus* ، أو الفيروسات الباقية *Persistent* بالنسبة للفيروسات التي تنقل بواسطة المن والقفازات .

جدول (٨ - ٤) : فيروسات النبات التي تنتقل بواسطة الذباب الأبيض .

الناقل	الفيروس
Yellow mosaic diseases	أولاً : أمراض الموزايك الأصفر :
<i>Bemisia tabaci</i>	١- الموزايك الأصفر في الأكاليفيا (<i>Acalypha indica</i>)
<i>B. tabaci</i>	٢- الموزايك الأصفر في الحطمية (<i>Althaca rosea</i>)
<i>R. tabaci</i>	٣- الموزايك الأصفر في الجوت (<i>Corchorus trilocularis</i>)
<i>B. tabaci</i>	٤- الموزايك الأصفر في اللبلاب (<i>Dolichos lablab</i>)
<i>B. tabaci race sidae</i>	٥- الموزايك الأصفر في الأوفوريا
<i>B. tabaci</i>	٦- الموزايك الأصفر في الورد
<i>B. tabaci</i>	٧- الموزايك الأصفر في الفاصوليا
<i>B. tabaci</i>	٨- الموزايك الأصفر في اللوبيا
<i>B. tabaci</i>	٩- الموزايك الأصفر في الطماطم
Yellow vein mosaic virus	ثانياً : أمراض موزايك العرق الأصفر :
<i>Bemisia tabaci</i>	١- موزايك العرق الأصفر في القرع
<i>B. tabaci</i>	٢- الاصفرار الشبكي في الدخان
<i>B. tabaci</i>	٣- الاصفرار الشبكي في الزينيا
<i>Bemisia spp.:</i>	٤- اصفرار العرق الشبكي في نبات التوت (<i>Mulberry</i>)
Leaf curl	ثالثاً : أمراض تجعد الأوراق :
<i>B. tabaci</i>	١- تجعد أوراق الشطة (<i>Chilli</i>)
<i>B. tabaci</i>	٢- تجعد أوراق الباباظ (<i>Papaya</i>)
<i>B. gossypiperda</i>	٣- تجعد أوراق القطن
<i>B. tabaci</i>	٤- تجعد أوراق التيل
<i>B. tabaci</i>	٥- تجعد أوراق الطماطم
<i>B. tuberculata, Trialeurodes natalensis</i>	٦- تجعد أوراق الدخان .
Aleuotrachelus socialis	
<i>B. tuberculata, A. socialis</i>	٧- تجعد أوراق البطاطس
<i>B. tabaci</i>	٨- تجعد أوراق الجورانييم

أهمية حشرات الخنافس فى نقل الفيروسات :

Transmission of viruses through beetles

تنتقل أغلب الفيروسات النباتية بواسطة الحشرات ذات الفم الثاقب الماص ، ولكن ينتقل القليل عن طريق الحشرات ذات الفم القارض .

وحديثاً سجل Cockbain (١٩٧١) ان أربعة من السوس weavils تتضمن نوعين من Apion ، ونوعين من Sitona تعتبر النواقل الأساسية لفيروس تلون بذور الفول Broad bean stain virus (BBSV) ، وقد كانت أنواع Apion هى الأكثر كفاءة بدرجة كبيرة .

والجدول (٨ - ٥) : يبين بعض الفيروسات النباتية التى تنتقل بواسطة الخنافس .

الناقل	الفيروس
<i>Apion vorax</i> , <i>A. arthops</i> .	تلون بذور الفول (BBSV)
<i>Sitona lineatus</i> , <i>S. hispidulus</i> .	تلون بذور الفول (BBSV)
<i>Phaedon ecochleriae</i> .	الموزايك الأصفر فى اللف (TYMV)
<i>Liptinotarsa decemlineata</i> .	الدرة المغزلية فى البطاطس (فايرويد)
<i>Phyllotrata</i> spp.	موزايك الفجل
<i>Epithrix fuscula</i> .	موزايك الباذنجان
<i>Epithrix parvula</i> , <i>E. cucumeris</i>	التبقع الحلقي فى الدخان
<i>Diabrotica undecimpunctata</i>	موزايك الكوسة
<i>Acalyma vittatum</i>	موزايك الكوسة
<i>Ceratonma trifurcata</i>	موزايك اللوبيا
<i>Ceratonma trifurcata</i>	موزايك الفاصوليا

وقد وجد بأن نقل الفيروسات عن طريق الخنافس ليس إلا عملية ميكانيكية تحدث بالتصاق الفيروسات على فكوك الحشرات المذكورة ، أثناء تغذيتها على النباتات المصابة ، ثم تنقل إلى النباتات السليمة أثناء تغذية الحشرات على أنسجتها ؛ فمثلاً وجد بأن الجراد

الكبير الحجم *Melanophus existentialis* يحمل فيروس موزايك الدخان (TMV) على فكوكه، بعد تغذيته على نباتات مصابة، وينقلها إلى النباتات السليمة التي يتغذى عليها، والتي تكون حساسة (قابلة للإصابة) بالفيروس المذكور.

غير أن التعميم بأن جميع الحشرات القارضة تنقل الفيروسات بصورة ميكانيكية بحته قد لا ينطبق على جميع الفيروسات التي تنتقل بواسطة الحشرات القارضة.. إذ لابد من إضافة شرط عدم وجود غدد اللعاب (Salivary glands) في الحشرات القارضة، التي تقوم بنقل الفيروس؛ حيث إنه قد وجد بأن الإفرازات اللعابية دوراً مهماً في عملية نقل الفيروسات بواسطة الحشرات. وتعليل ذلك هو أن الحشرات التي لا تمتلك غدداً لعابية تنقياً Regurgitate بعض محتويات الجزء الأعلى من القناة الهضمية Foregut، والتي تتضمن بعض أجزاء النبات المصاب، وتعيد مضغه لتسهيل عملية الهضم، وأثناء هذه العملية يحدث تلامس بعض القطع من أجزاء النبات المصاب في فم الحشرة، وأنسجة أوراق النبات السليم الذي تتغذى عليها الحشرة، وتحدث العدوى. بينما الحشرات التي تمتلك غدد لعاب لا تقوم بتقيؤ ومضغ أنسجة النبات التي تم ابتلاعها، ولذلك لا تحدث الملامسة المباشرة بين الأنسجة المصابة (داخل فم الحشرة) والأنسجة السليمة للنبات، بالإضافة إلى وجود بعض المواد المثبطة Inhibitors في الإفرازات اللعابية بالنسبة لبعض الفيروسات. ولذلك نرى أن فيروس موزايك اللفت الأصفر Turnip yellow mosaic virus لا ينتقل بواسطة Caterpillar، رغم كونها من الحشرات القارضة؛ لأنها تمتلك غدداً لعابية، وعليه فإنها لا تنقي غذاءها لتقوم بإعادة مضغه.

ومن المعروف بأن الخنافس أو يرقاتها التي تنقل الفيروسات لها قدرتها على إصابة النباتات لبضعة أيام، دون الحاجة إلى تغذيتها مرة أخرى على نباتات حاملة للفيروس، ويعتقد بأن هذه المدة هي فترة بقاء الأنسجة المصابة في الجزء الأعلى من القناة الهضمية للحشرة، وأن بعد الانتهاء من هضم هذه الأنسجة، لابد من تغذية الحشرة على نبات مصاب لاستعادة قدرتها على نقل الفيروس.

علاقة الفيروس بالحشرة الناقلة له :

أهم علاقة بين الفيروس والحشرة هي علاقة المدة التي تلزم للحشرة للتغذية على العائل المصاب؛ حتى يمكنها أن تكون حاملة للفيروس، وقادرة على إحداث العدوى، وكذلك المدة التي تبقى فيها الحشرة قادرة على إحداث العدوى للعائل. فنجد أن بعض الحشرات يمكنها أن تلتقط الفيروس من العائل في مدة تغذية قصيرة، ولكنها تتطلب مدة طويلة؛ حتى يمكنها أن تصبح قادرة على عدوى النباتات، وغالباً تبقى لمدة طويلة حاملة للفيروس، وبالعكس نجد أن بعض الحشرات يمكنها أن تنقل الفيروس مباشرة بعد التغذية على العائل المصاب، وغالباً تفقد القدرة على عدوى النباتات بعد عدة ساعات من مغادرتها العائل المصاب بالفيروس، وكذلك لا تنقل المرض إلا لنبات واحد، ثم تفقد القدرة لإحداث العدوى في النباتات التالية.

وهذه العلاقة يحملها الفيروس نفسه وليس الحشرات، فنجد أن فيروساً ما إما أن يكون من النوع الأول أو تلتقطه الحشرات في مدة تغذية قصيرة، ويتطلب مدة طويلة داخل الحشرة بعد تغذيتها على العائل المصاب. وهذه الصفة تبقى ملازمة للفيروس حتى باختلاف أصناف الحشرات التي تنقله. وبالعكس نجد أن حشرة ما يمكنها أن تنقل فيروسين مختلفين أحدهما من النوع الأول، والآخر من النوع الثاني، وبذلك نجد أن الحشرة الناقلة ليس لها أي دخل في هذا التقسيم.

وقد اعتقد أن النوع الأول من الفيروسات يجب أن يبقى داخل جسم الحشرة بعض الوقت، قبل أن تتمكن الحشرة من نقله لوجود علاقة بينه وبين الحشرة حتى تكاثره داخل الحشرة، كذلك اقترح أن النوع الثاني من الفيروسات ينتقل بطريقة ميكانيكية بحتة على أجزاء فم الحشرة؛ أي إنه لا يدخل جسم الحشرة.

وقد قام Watson & Roberts سنة ١٩٣٣ بتسمية المجموعة الأولى من الفيروسات بالفيروسات الباقية. Persistant V، أما المجموعة الثانية فقد أطلق عليها فيروسات غير باقية، وقد اعتمد في هذه التسمية بأن قاما بتقسيم الفيروسات بالنسبة للمدة التي تبقى فيها الحشرة حاملة للفيروس، فإذا أصبحت الحشرة قادرة على نقل الفيروس لمدة طويلة، قد تصل

إلى طول حياتها فإنها تكون من المجموعة الأولى، أما إذا فقدت القدرة على نقل الفيروس بعد تغذيتها على العائل بمدة بسيطة تقدر بالساعات.. فإنها توضع في المجموعة الثانية. وبذلك نجد أن هذا التقسيم اعتمد على مدة احتفاظ الفيروس في حالة إمكان إحداث العدوى به، ولم يدخل في الاعتبار مدة التغذية على العائل، أو المدة التي تمضي قبل أن تتمكن الحشرة من نقل الفيروس، وكذلك مدى إمكانها إحداث العدوى في نباتات متتالية؛ حيث إن هذه الخواص يمكن تغييرها بتغيير طرق تغذية الحشرة على العوائل، فمثلاً نجد أن بعض الفيروسات التي كان متفقاً عليه من أنه من النوع غير الباقي (أي أن الحشرة التي تنقله يمكنها إحداث العدوى للعائل بعد مغادرة النبات المصاب مباشرة، ولا يمكنها أن تصيب إلا نباتاً واحداً فقط، ثم تفقد قدرتها على عدوى النبات التالي) يمكن زيادة عدد النباتات، التي يمكنها أن تصيبها بتقصير المدة التي تتغذى فيها الحشرة على العائل السليم، وبذلك يمكن للحشرة أن تحدث العدوى في عدة نباتات.

وعلى هذا نجد أن تقسيم الفيروسات إلى فيروسات باقية وغير باقية يعتمد على الوقت، وقد ظهر من هذا التقسيم مجموعة من الفيروسات، التي يمكن أن تعتبر ما بين باقية وغير باقية؛ مما جعل Watson سنة ١٩٦٠ يعمد إلى تقسيم الفيروسات إلى قسمين: فيروسات خارجية؛ أي التي تنتقل ميكانيكياً على أجزاء فم الحشرة وفيروسات داخلية، أي الفيروسات التي ندخل جسم الحشرة ونمر فيه إلى الغدد اللعابية، ومنها إلى النبات. ولكن قام Kennedy et al سنة ١٩٦٢ بتغيير هذين الاسمين إلى Stylet-borne Viruses أي الفيروسات التي تحمل على أجزاء الفم، وذلك بالنسبة للفيروسات الخارجية.

أما بالنسبة للفيروسات الداخلية فقد أطلق عليها Circulative viruses أي الفيروسات التي تمر داخل الحشرة، دون أن تتكاثر داخل الحشرة، أما إذا ثبت أنها تتكاثر داخل الحشرة فإنه يطلق عليها Propagative viruses، وعلى ذلك نجد أن التقسيم الجديد يعتمد اعتماداً كلياً على علاقة ثابتة بين الفيروس والحشرة، وليس على الوقت كما كان التقسيم القديم.

أولاً: الفيروسات التي تحمل على أجزاء الفم أو الفيروسات الخارجية:

تحمل بعض الفيروسات على أجزاء فم الحشرة من النبات المصاب إلى النبات السليم

وتصيبه ميكانيكياً، كما يحدث بالتلقيح بالعصير، بدليل أن الوقت الذى يمر من وقت تغذية الحشرة على النبات المصاب ثم النبات السليم، قد يصل إلى ثوانٍ أو دقائق قليلة، ومع ذلك تحدث العدوى، ومثل هذا الوقت القصير يدل على أنه لا توجد فترة كافية للفيروس لأن يدخل إلى داخل الحشرة ويمر فيها، ثم يمكن إفرازه مع اللعاب خلال هذه الفترة القصيرة، وعلى هذا الأساس أطلق على هذه المجموعة من الفيروسات «الفيروسات التى تحمل على أجزاء الفم الخارجية».

وهذه الطريقة التى يحدث فيها تلقيح النبات ميكانيكياً بواسطة أجزاء الفم الملوثة بالفيروس تثير كثيراً من علامات الاستفهام عن علاقة الفيروس بأجزاء فم الحشرة التى يمكنها فى بعض الأحوال أن تنقله، وفى البعض الآخر لا يمكنها، ويرد فى التالى بعض الاستفهامات:

١ - لماذا يوجد تخصص للفيروس بالنسبة للحشرة التى تنقله؛ أى إن بعض أنواع الحشرات من جنس معين يمكنها أن تنقل فيروساً ما، ومع ذلك لا تنقله أنواع أخرى من الحشرات من الجنس نفسه.

٢ - فى بعض الفيروسات نجد أنها تنتقل بواسطة عدة أنواع من المن، إلا أن بعضها له قدرة عالية فى إحداث العدوى عن البعض الآخر.

٣ - يمكن لحشرة ما أن تنقل بعض سلالات أحد الفيروسات، ولكن لا يمكنها أن تنقل السلالة الأخرى من هذا الفيروس، كما يحدث مع سلالات فيروس فى البطاطس؛ حيث إن بعضها ينتقل بواسطة حشرة المن *Myzus persicae*، والبعض الآخر لا ينتقل بواسطة تلك الحشرة.

٤ - إذا كانت الفيروسات تنتقل بواسطة الحشرات بطريقة ميكانيكية بحتة، فإنه كان يجب أن تنتقل فيروسات مثل فيروس تبرقش الدخان وفيروس X فى البطاطس بواسطة الحشرات. وهذا ما لا يحدث، مع أن هذين الفيروسين من الفيروسات السهلة الانتقال بواسطة التلقيح بالعصارة وبالطرق الميكانيكية الأخرى مثل تلامس الأوراق.

وعلى ذلك نجد أن مثل هذه الاستفهامات تزيد الموضوع تعقيداً مما يجعلنا - للإجابة عن مثل هذه الاستفهامات - نضع فى الحسبان العائل الذى ينتقل منه الفيروس، والعائل الذى ينتقل إليه، وما دخل العائل فى نجاح عملية الانتقال بواسطة الحشرات فمثلاً نجد أن فيروس تبرقش الدخان لا ينتقل من دخان إلى دخان بواسطة الحشرات، ولكن يمكنه أن ينتقل من طماطم إلى طماطم. كذلك يجب أن يوضع فى الحسبان الصفات المورفولوجية والتشريحية والفسىولوجية لأجزاء فم الحشرة وصفات اللعاب، وكيفية إفرازه أثناء عملية التغذية، أو بمعنى آخر العوامل التى لها علاقة مباشرة على نجاح التقاط الفيروس على أجزاء الفم من العائل المصاب، وإمكان نجاح العدوى بترك أجزاء الفم للفيروس فى أنسجة النبات السليم فى حالة نشطة وتوصيلها للبؤرة، التى يمكن أن يحدث عندها تكاثر الفيروس وحدوث العدوى.

وتتميز مجموعة الفيروسات التى تنتقل ميكانيكياً على أجزاء فم الحشرة بالتالى:

١ - من الخواص المعروفة عن مجموعة الفيروسات التى تنتقل ميكانيكياً على أجزاء فم الحشرة (واتسون سنة ١٩٣٨) أنه بتجويع الحشرة قبل التغذية على العائل المصاب مدة ساعة، يزيد من قدرة الحشرة فى نقل الفيروس. وهذه النظرية القديمة قد ثبت أخيراً عدم صحتها فإنه لو تركت الحشرة لتتغذى بهدوء دون حدوث أى اضطرابات خارجية تجعل محاولة التغذية متقطعة، فإنه لا يوجد فارق فى قدرة نقل الفيروس بواسطة الحشرة، سواء عرضت لفترة تجويع أم لم تعرض.

٢ - كلما نقصت مدة تغذية الحشرة على العائل المصاب، زادت قدرتها على إحداث العدوى.

٣ - كلما نقصت فترة تغذية الحشرة الحاملة للفيروس على العائل، زاد عدد النباتات التى يمكن للحشرة أن تصيبها.

٤ - معظم هذه الفيروسات تنتقل بالمن.

ثانياً: الفيروسات التي تمر داخل الحشرة أو الفيروسات الداخلية:

كما ذكر من قبل، تتميز معظم الفيروسات التي تنتقل بواسطة حشرة المن بأن الحشرة يمكنها أن تلتقط الفيروس، وتنقله في خلال ثوانٍ أو دقائق قليلة من التغذية على العائل المصاب ثم السليم، ولكن الحشرة تفقد بسرعة قدرتها على نقل الفيروس بعد ذلك، إلا إذا تغذت ثانية على عائل مصاب، ويعنى ذلك أن الفيروس يحمل على أجزاء الفم. أما المجموعة الثانية وهى الفيروسات التي تمر داخل الحشرة أو الفيروسات الداخلية، فإنها تتميز بمرور فترة من الوقت تقدر بالساعات أو الايام ما بين التغذية على العائل المصاب، وإمكان نقل الحشرة للفيروس، كما تتميز بأن الحشرة لا تبقى قادرة على نقل الفيروس عدة أيام أو مدة أطول بعد تركها للعائل المصاب بالفيروس.

ويطلق على هذه المجموعة من الفيروسات التي تمر داخل الحشرة - وإذا ثبت من دراسة أحد هذه الفيروسات ما يدل على أنها تتكاثر داخل الحشرة الناقلة لها - فإنه يطلق على هذا الفيروس أو الفيروسات التي تتكاثر داخل الحشرة *Propagative viruses*، وبذلك نجد أن تغيير تسمية الفيروسات وعلاقتها بالحشرة، تأخذ الآن طريقاً واضحاً على أساس علاقات ثابتة ما بين الفيروس والحشرة وليس على الزمن الذى تبقى فيه الحشرة حاملة للفيروس، كما كان يطلق عليها من قبل، وهى الفيروسات غير الباقية *Non-persistent viruses* فى الحشرة (الفيروسات الخارجية) والفيروسات الباقية فى الحشرة *Persistent viruses* (الفيروسات الداخلية).

أ - مرور وتكاثر الفيروسات داخل الحشرة:

من الأمثلة الواضحة لمرور أحد الفيروسات داخل الحشرة وعدم تكاثرها فيها، هو فيروس تجعد أوراق بنجر السكر *Sugar beet curly top*، الذى ينقله نطاط الورق *Circulifer tenellus*، فقد افترض Freitag سنة ١٩٣٦ أنه لو كان هذا الفيروس يتكاثر داخل الحشرة الناقلة له، فإن الحشرة يجب أن تحمل الفيروس طول حياتها، كما أن مدة تغذية الحشرة على النبات المصاب يجب ألا تتدخل فى عدد النباتات، التى يمكن أن تصاب، فعدد النباتات التى يحدث لها العدوى يجب أن يكون متساوياً، سواء تغذت الحشرة على العائل المصاب

لمدة بسيطة أم لمدة طويلة.

وقد دلت نتائج تجاربه على أن هذا الفيروس لا يتكاثر داخل الحشرة، فقد وجد أن هناك تناقصاً في نسبة النباتات التي تصاب بالفيروس، وذلك عند نقل الحشرة الحاملة للفيروس يومياً إلى نباتات سليمة لمدة ٣٠ يوماً. كذلك وجد أن بإطالة مدة تغذية الحشرة على المصدر المصاب.. فإن الحشرة تبقى مدة أطول حاملة للفيروس، كذلك وجد أن إبقاء الحشرة الحاملة للفيروس على نبات منبع للفيروس مثل الذرة السكرية، ثم اختبار الحشرة كل عشرة أيام بتغذيتها على نباتات بنجر، فإن نسبة النقل تتناقص، فبعد العشرة أيام الأولى تنقص نسبة نقل الفيروس إلى ٥٠٪، وبعد ١٩ يوماً تنقص نسبة الانتقال إلى ١٠٪.

وقد توصل Bennett and Wallace سنة ١٩٣٨ إلى النتيجة نفسها من أن هذا الفيروس لا يتكاثر داخل الحشرة، ولكن النتائج التي وجدها Maramorosch سنة ١٩٥٥ تلقي ضوءاً أن هناك احتمالاً بأن هذا الفيروس يتكاثر داخل الحشرة، فقد وجد أن بحقن أفراد من حشرة *C. tenellus* بفيروس تجعد أوراق البنجر مخفف بدرجات مختلفة، فإن فترة الحضانة تكون أقصر في التخفيفات العالية، وذلك في فردين من خمسة أفراد، عنها من التخفيفات المنخفضة، وذلك في فردين من ستة أفراد، ولو أنه وجد أنه عند نقل أفراد كلتا المجموعتين المحقونة بتخفيف عالٍ أو بتخفيف منخفض يومياً إلى نباتات سليمة، فإن مجموعة الأفراد المحقونة بتخفيف منخفض تحدث عدوى بنسبة أعلى من تلك المحقونة بتخفيف عالٍ.

وقد اقترح Kunkel سنة ١٩٢٦ أن اصفرار الستر Aster yellows يتكاثر داخل نطاط الورق *Macrosteles divisus* الناقل له، على أساس أن هذا المسبب له فترة حضانة داخل الحشرة، تقدر بحوالي ٩ أيام، كما أن الحشرة تبقى حاملة للمسبب طول عمرها. وقد قام بمحاولة إثبات احتمال حدوث تكاثر المسبب (ميكوبلازما) داخل الحشرة بأن قام بوضع أفراد من هذه الحشرة حاملة للمسبب على حرارة ٣٥°م لمدة مختلفة، ثم إرجاعها ثانية إلى درجة ٢٤°م، فوجد أن الأفراد لا تستطيع نقل المرض فوراً عند رجوعها إلى ٢٤°م، بل تقضى فترة قبل إمكانها أن تصيب نباتات سليمة، أما إذا عرضت على درجات أعلى من ٣٥°م، فإنها تفقد قدرتها على إحداث العدوى عند رجوعها إلى درجة ٢٥°م. وهذه النتيجة تدل

على أن تعريض الأفراد للدرجة ٣٥م يجعل الحشرة تفقد جزءاً كبيراً من الميكوبلازما الذى بداخلها، بحيث لا يمكن أن تحدث العدوى، ولكن برجع الحشرة إلى درجة ٢٤م، فإن المسبب يتكاثر داخل الحشرة ويمكن للحشرة أن تحدث العدوى، وتصبح حاملة للمسبب. أما بتعرض الحشرة لأكثر من ٣٥م فإن المسبب (الميكوبلازما) ينتهى تماماً من الحشرة.

ولقد كانت هذه إحدى الطرق التى أمكن بها إثبات أن الفيروس يتكاثر فعلاً داخل الحشرة الناقلة له. وقد استخدم Black سنة ١٩٤١ طريقة مختلفة لإثبات تكاثر الفيروس داخل الحشرة، وذلك بأن قام بتغذية مجموعة من نطاط الورق على نباتات إستر، مصابة لمدة يوم واحد، ثم نقلها إلى نباتات إستر، واستمر فى نقلها؛ حتى لا تلتقط مصدراً جديداً من الفيروس، وفى خلال ذلك فإنه كان يأخذ ٥ فرداً من الحشرة فى ثانى ورابع وثمان واليوم الثانى عشر واليوم السادس عشر، بعد التغذية على النبات المصاب، ويقوم بطحن تلك الأفراد فى محلول فسيولوجى، وتخفيفه تخفيفات مختلفة، ثم تحقن كمية بسيطة من كل تخفيف فى ١٢٠ فرداً من نطاط الورق، الذى لم يتغذى أبداً على نباتات مصابة، ثم تؤخذ الأفراد المحقونة، وتوضع على نبات منيع ضد «فيروس» اصفرار الأستر مثل الشوفان، وترك لمدة ٣ أسابيع، وبعد ذلك تقسم الأفراد التى ما زالت حية فى كل مجموعة إلى مجموعات من ٥ أفراد، وتغذى على نبات إستر واحد سليم لمدة أسبوع، ثم على نبات آخر لمدة اسبوعين. وقد وجد أن قدرة الحشرات المحقونة على «نقل الفيروس» تتزايد بتزايد الفترة التى بقى بها الفيروس فى الأفراد الأولى وهى ٢، ٤، ٨، ١٢، ١٦ يوماً، كما أن التخفيف لم يكن له تأثير ملحوظ مما يدل على أن تركيز «الفيروس» يتزايد فى الحشرة أو بمعنى آخر يتكاثر.

وقد اتبع Maramorosch سنة ١٩٥٢ طريقة حقن الحشرة السليمة بمعلق من ناتج طحن حشرة حاملة لمسبب اصفرار الأستر. وعند حساب تخفيف الفيروس، نجد أنه يخفف ١٠٠٠٠ مرة بعد كل حقنة. وقد قام بحقن مجموعة من ٢٠٠ فرد من نطاط الورق، وأبقاها ٣٠ يوماً على نباتات شوفان منيعة ضد هذا الفيروس، ثم نقلها لمدة يومين على نباتات إستر سليمة لتقدير نسبة الانتقال، ثم طحن أفراد من هذه المجموعة وحقنها فى أفراد نظيفة من

الفيروس وتكرار تغذيتها على نباتات شوفان، ثم اختبار قدرتها للعدوى، ثم طحن أفراد من هذه المجموعة وحقن الناتج في مجموعة ثالثة وهكذا. وقد كرر ذلك ١٠ مرات؛ أى إنه قام بتخفيف الفيروس 10×10^4 أى 10^4 ، وقد وجد أن قدرة الحشرات للنقل لم تتأثر وهذا لا يحدث إلا إذا كان الفيروس يتكاثر فعلاً في الحشرة.

ب - انتقال الفيروس إلى أجيال الحشرة:

لوحظ في اليابان في أوائل القرن العشرين أن فيروس تقزم الارز Rice Stunt ينتقل عن طريق بيض الحشرة الناقلة له نطاط الورق *Nephotetix apicalis*، وقد أمكن سنة ١٩٣٣ و ١٩٣٥ و ١٩٤٠ إثبات ذلك، فبترية أنثى وذكر من هذه الحشرة حاملين للفيروس لسته أجيال، دون أن تتغذى على عائل لهذا الفيروس؛ حتى لا تلتقط مصدراً جديداً للفيروس فإن أفراد الجيل السادس أثبتت أنه مازال حاملاً للفيروس. وقد قدر التخفيف الذى أجرى للفيروس بمروره في الستة أجيال بنسبة لا تقل عن ١ : ٥٦٣٠٠٠، كذلك تمكن Fukuschi سنة ١٩٥٠ من إثبات أن فيروس Clover club leaf Virus يمكن أن يحمل في ٢١ جيلاً من أجيال نطاط الورق *Agalliopsis novella*، وذلك بانتقال الفيروس عن طريق بيض تلك الحشرة، مع أن جميع أفراد تلك الأجيال لم تتغذى على نباتات مصابة.

ج - أسباب إخفاق الفيروسات في أن تسبب العدوى بواسطة الحقن أو التلقيح بالعصارة، مع أنها تنتقل بواسطة الحشرات :

معظم الفيروسات التى تمر داخل الحشرة يصعب نقلها بواسطة الحقن بالعصير، ومن غير المعروف حتى الآن سبب إخفاق كثير من الفيروسات في أن تصيب العدوى بواسطة التلقيح بالعصارة أو بالطرق الميكانيكية مع أنها تنتقل بواسطة الحشرات. وهناك عدة نظريات تحاول توضيح هذه الظاهرة، ومنها:

- ١ - قد يكون تركيز الفيروس في عصارة في العائل منخفضاً جداً، حتى أنه لا يمكنه إحداث أى عدوى بالعصير المستخلص، في حين أن الحشرة الناقلة لهذا الفيروس قد تقوم بتركيزه أثناء التغذية على العصير.

٢ - من المحتمل أن الفيروس يجب أن يدخل خلايا معينة داخل أنسجة النباتات، لا يمكن إيصاله لها بواسطة تلقيح النبات بالعصير، ولكن يمكن للحشرة أن تؤدي ذلك أثناء تغذيتها على العائل. ومن الملاحظ أن معظم الحشرات تغذى في منطقة اللحاء، وقد وجد فعلاً أن بعض الفيروسات تكون مركزة في أنسجة اللحاء، مثل فيروس تجمع قمة بنجر السكر، أما الأنسجة الأخرى فيكون تركيز الفيروس منخفضاً بها، وهذا قد يرجع إلى وجود مواد توقف نشاط الفيروس (Bennett سنة ١٩٣٥) كذلك وجد Storey سنة ١٩٣٨ أن الحشرة الناقلة للفيروس تخطيط الذرة *Maize streak virus* يمكنها أن تلتقط الفيروس من الخلايا البرانشيمية، ولكن إذا وضعت الحشرة الحاملة للفيروس على ورقة نبات سليم، بحيث لا يمكن لأجزاء فم الحشرات أن تصل لأنسجة اللحاء، فإن النبات لا يصاب بالفيروس مهما طال مدة تغذية الحشرة عليه.

وقد يكون ذلك راجعاً إلى أن الفيروس يمكنه أن يتكاثر داخل الخلايا البرانشيمية لنبات الذرة، إذا انتقل إليهما عن طريق خلايا أخرى، ولكن لا يمكن للفيروس أن يتكاثر داخل هذه الخلايا البرانشيمية لانخفاض تركيز الفيروس الذي تفرزه الحشرة.

٣ - قد يكون لسرعة انتقال الفيروسات داخل الأنسجة دخل كبير في أن بعض الفيروسات التي تنتقل بواسطة الحشرات تخفق في إحداث العدوى، عند استخدام العصير. فمن المعروف أن بعض الفيروسات التي تنتقل بواسطة الحشرات، تنتقل داخل الأنسجة من مكان حدوث العدوى بسرعة أكبر من الفيروسات، التي تلقح بالعصير. فقد وجد Severin سنة ١٩٢٤ أن فيروس تجمع قمة بنجر السكر، يمكن الكشف عنه على بعد ٣٦ سم من مكان إحداث العدوى بحشرة نطاط الورق *Eutettix tenellus*، وكذلك ٢٠ سم في فيروس تخطيط الذرة، وذلك بعد ساعة واحدة من حدوث العدوى، وبالعكس نجد أن الفيروسات التي تلقح لها الأوراق بواسطة العصير لا تترك أنسجة الورقة، إلا بعد ٤-٥ أيام. وقد يكون ببطء انتقال الفيروس في خلايا الورقة الملقحة بالعصير هو السبب في عدم حدوث العدوى؛ حيث إن تلقيح الأوراق بالعصير ومسحوق الصنفرة يسبب جروحاً كبيرة في الخلايا، قد تكون سبباً في موت الخلايا،

وبالتالى عدم إمكان الفيروس من التكاثر بداخلها، أو عدم إمكانه الانتقال إلى خلايا سليمة لبطئه فى الانتقال. هذا بعكس ما يحدث فى حالة تغذية الحشرات فى خلايا اللحاء أو خلايا الخشب، فلو أن الجروح التى تسببها الحشرة للخلايا قد تسبب موتها، إلا أن مثل تلك الخلايا يوجد بها نشاط فسيولوجى كبير لانتقال الاغذية بداخلها؛ مما يجعل الفيروس ينتقل من الخلية المجروحة قبل أن تموت إلى خلايا أخرى سليمة.

٤ - أن الفيروسات التى تنتقل بواسطة الحشرات تتوقف عن النشاط، ولا يمكنها إحداث العدوى إذا استخلص العصير من النبات؛ أى إنها تبقى نشطة ما دامت داخل أنسجة النبات غير المجروحة - وكذلك عندما تكون داخل الحشرة الناقلة لها. وقد تكون هذه النظرية صحيحة مع بعض الفيروسات، ولكن نجد أن Storey سنة ١٩٣٣ قد أثبت خطأ تلك النظرية مع فيروس تخطيط الذرة؛ حيث قام باستخلاص عصير نبات ذرة مصاب بالفيروس، ثم قام بحقنه فى نطاط الورك *Cicadulina mbila*، وامكن للحشرة أن تعدى نبات ذرة سليماً، مع أنه لم يمكن إحداث العدوى بتلقيح الاوراق بالعصير.

وقد توصل Bennett سنة ١٩٣٥ إلى النتيجة نفسها مع فيروس تجعد قمة بنجر السكر؛ حيث إنه بتغذية نطاط الورك الذى ينقل هذا الفيروس على محلول سكرى من مستخلص نباتات مصابة، أو محلول سكرى من مستخلص الحشرات الحاملة للفيروس، فإن الحشرات تحدث العدوى عندما تتغذى على نباتات بنجر سكر سليمة. وعلى العموم فقد وجد أن هذا الفيروس من الفيروسات الثابتة Stable فهو يبقى ٢٨ يوماً فى حالة نشطة على درجة حرارة الحجرة ونقطة توقف نشاطها بالحرارة هو ٧٥م، ويمكن لهذا الفيروس كذلك أن يبقى نشطاً لمدة ساعتين فى كحول ٩٠٪.

وهذه النتائج التى توصلوا إليها تدل على أن الكمية اللازمة من الفيروس لإحداث العدوى تكون بسيطة جداً، وقد اقترح أن مثل هذه الكمية لا يمكنها أن تحدث عدوى بتمريرها على الاوراق.

٥ - عند استخلاص عصير النبات المصاب بالفيروس، وذلك بطحن أنسجة النبات، فإن

الفيروس قد يلتصق أو يتحد مع مركبات تجعله غير قابل لإحداث العدوى عند تمرير العصير على سطح أوراق العائل، ولكن عندما تتغذى الحشرة على عصارة النبات.. فإنها تستخلص وتفصل الفيروس من تلك المواد اللاصق بها، أو تفصله عن المواد التي توقف نشاطه.

د - الطريق الذي تسلكه الفيروسات داخل الحشرة:

الطريق الذي تسلكه الفيروسات داخل الحشرات التي تنقلها (من ذوات الفم الشارب الماص) هو أنها عندما تصل إلى المعدة فإنها تنفذ خلال جدارها إلى الدم، ومنها إلى الغدد اللعابية حيث تختلط باللعاب، ثم تمر مع اللعاب إلى أنسجة العائل، عندما تتغذى عليه الحشرة. وقد تمكن Storey سنة ١٩٣٢ من إثبات ذلك أثناء ملاحظاته أن نطاط الورق *Cicodulina mbila* الذى ينقل فيروس تخطيط الذرة، له سلالة لا يمكنها أن تنقل هذا المرض. وقد وجد أن الفيروس يوجد فى معدة ودم السلالة الناقلة للمرض ولكن الفيروس لا يوجد إلا فى المعدة فقط فى السلالة التى تنقل المرض. ولقد تمكن من تحويل السلالة الأخيرة إلى حالة تتمكن منها أن تنقل المرض، وذلك بعمل ثقب فى معدة تلك السلالة قبل التغذية، أو بعد التغذية مباشرة على العائل المصاب.

ويعتقد أن الدم هو المخزن الرئيسى للفيروس داخل الحشرة؛ حيث ينتقل ببطء إلى الغدد اللعابية، حيث يختلط باللعاب، فقد وجد Storey فى الكشف عن فيروس تخطيط الذرة فى الغدد اللعابية لنطاط الورق الذى ينقله.

كذلك وجد Bennett and Wallace سنة ١٩٣٨ أن تركيز فيروس تجمع قمة بنجر السكر فى الغدد اللعابية لنطاط الورق *Circulifer tenellus* أقل بكثير من تركيزه فى الأنسجة الأخرى.

ومن الدلائل التى تدل على أن الغدد اللعابية ليست المخزن الطبيعى للفيروس داخل جسم الحشرة، هو أنه لو قمنا بتغذية حشرة حاملة للفيروس على عدة نباتات سليمة بالتوالى بحيث تبقى على كل نبات مدة معينة.. فإننا نجد أن بعض تلك النباتات لاتصاب

بالفيروس. ويزيد احتمال الإصابة كلما زادت المدة التي تقضيها الحشرة على النبات، ويرجع هذا غالباً إلى أن الفيروس تنتهي كميته من الغدد اللعابية بسرعة، مع عدم مرور فيروسات بطريقة منتظمة من الدم إلى الغدد، وبذلك تبقى الغدد بعض الوقت خالية من الفيروس، وفي هذه الحالة لا تحدث عدوى للنباتات. ويزيادة مدة تغذية الحشرة على النباتات فإن احتمال مرور الفيروس من الدم إلى اللعاب يزداد، وبذلك يزداد احتمال انتقال الفيروس إلى العائل وحدوث العدوى.

وغالباً ما يمر معظم جزئيات الفيروس من جدران المعدة إلى الدم، فقد وجد أن قليلاً جداً من الفيروس يمر مع البراز.

ومن العلاقات الغريبة بين أحد الفيروسات والحشرة الناقلة له هو ما يحدث مع فيروس الذبول المبقع في الطماطم (Tomato spotted wilt virus (TSWV)، الذي ينتقل بواسطة التريسي *Thrips tabaci*، وهنا نجد أن الحورية والحشرة الكاملة يمكنها نقل الفيروس، ولكن نجد أن الحشرة الكاملة لكي تكون ناقلة للفيروس، يجب أن تكون قد تغذت على العائل المصاب أثناء كونها حورية، وليس بعد أن تكون حشرة كاملة، ولو أنه لا يوجد أى اختلاف بينها في طريقة التغذية، إلا أنه قد يكون هذا الاختلاف ناتجاً عن عدم نفاذية معدة الحشرة الكاملة للفيروس، مما يؤدي إلى خروجه مع البراز.

وحتى الآن لا تعرف كيفية انتقال الفيروس من المعدة إلى الدم، وكيف أنه ينفذ من أغشية نصف منفذة لم يلاحظ فيها جروح أو ثقب. وعلى العموم نجد أن كثيراً من الحشرات تلتقط فيروسات مختلفة من عوائل مصابة بها، ولكن هذه الحشرات لا تنقل تلك الفيروسات لأنها تمر إلى الخارج مع البراز دون أن تمر إلى الدم، وهذا قد يرجع لعدم نفاذية معدة تلك الحشرات لهذه الفيروسات، إلا أنه قد وجد أنه بحقن بعض تلك الحشرات بفيروسات لا تنقلها في دمها، أو بعمل ثقب في معدة تلك الحشرات بعد تغذيتها على فيروس لا تنقله هذه الحشرات، فإن تلك العمليات لا تحولها إلى حشرات ناقلة لتلك الفيروسات.

وفى هذه المجموعة من الفيروسات التى تمر داخل الحشرة، نجد أن هناك فيروساً ينتقل بواسطة حشرة الخنفساء *Phaedon ecocleariae*، وهنا يعتقد أن المدة التى تلزمها الحشرة ليتمكنها إحداث العدوى، تختلف فى مسببها عن الفيروسات التى تنتقل بواسطة حشرات ذات فم ثاقب ماص، والتى تمر داخل جسم الحشرة، وفى حالة فيروس التبقرش الأصفر للفت، فإن الفيروس يدخل مع الأغذية المضغوطة إلى المعدة، ثم يخرج ثانية عندما تستفرغ الحشرة أثناء التغذية فتحدث العدوى.

فترة بقاء الفيروس داخل الحشرة لإمكان حدوث العدوى : Latent period

وهذه الفترة هى أهم خاصية من خواص الفيروسات الباقية؛ حيث يجب أن تمر على الحشرة فترة معينة بعد التغذية على نبات مصاب؛ حتى يمكنها أن تنقل الفيروس، وهذه الفترة تتراوح ما بين ساعة إلى أكثر من أسبوعين حسب الفيروسات.

ومن غير المعروف لزوم هذه الفترة للفيروس؛ لكى تتمكن الحشرة من إصابة العائل، إلا أن هناك عدة نظريات، منها:

١ - أن هذه الفترة تلزم للفيروس؛ لكى تتغير قدرته فى إحداث العدوى، أى إنه يجب أن تمر ببعض التغييرات داخل جسم الحشرة؛ حتى يمكنه إحداث العدوى لعائل آخر، إلا بعد أن يمر داخل الحشرة الناقلة له، فتحدث له التغييرات المختلفة، التى تسبب قدرته على إحداث العدوى من جراء هذه التغييرات. وهذه النظرية من النظريات التى تقدم بها البعض لتوضيح سبب عدم إمكان بعض الفيروسات أن تنتقل بواسطة التلقيح بالعصير، مع أنها تنتقل بواسطة الحشرات.

إلا أن Storey أخفق فى إحداث العدوى لنباتات الذرة لفيروس تخطيط الذرة، وذلك باستخدام مستخلص نطاطات حاملة لهذا الفيروس، بعد طحنها كمصدر لعدوى تلك النباتات، مع أنه أمكنه أن يحول حشرة نظيفة من هذا الفيروس إلى حشرة ناقلة له بحقنها بهذا المستخلص. وهذه التجربة لا تدل قطعاً على أن التغيير فى قدرة

الفيروس على إحداث العدوى لانتشار في جسم الحشرة فقد يحدث ذلك، ولكن الفيروس لم يتمكن من إحداث العدوى بالطرق الميكانيكية لأحد الأسباب التي ذكرت من قبل.

٢ - أن هذه الفترة هي المدة التي يأخذها الفيروس للمرور داخل جسم الحشرة من وقت تغذية الحشرة على العائل المصاب إلى أن يفرز بواسطة الحشرة.

٣ - أن الحشرة تلتقط كمية بسيطة جداً من الفيروس أثناء تغذيتها على العائل المصاب؛ حتى أن هذه الكمية لا يمكنها إحداث العدوى؛ لذا يتكاثر الفيروس داخل جسم الحشرة إلى أن يصل إلى التركيز الذي يمكنه إحداث العدوى عنده، وبهذا تمضي فترة قبل أن تتمكن الحشرة من إحداث العدوى.

سابعاً: انتقال الفيروسات بواسطة بعض أنواع الحلم والعناكب:

Transmission of plant viruses by mites

هناك مجموعة من الحلم (الأكاروس) والعناكب Eriophyidae تعرف بقدرتها على نقل بعض الفيروسات، التي تسبب أمراضاً في النبات. يبلغ طول هذه الناقلات حوالي ٠.٢ ملم، ولها أربعة أرجل فقط، ولها خرطوم دقيق تستخدمه في اختراق خلايا النبات، التي تتغذى عليها ويسهل اللعاب الذي تفرزه غدد اللعاب عملية غرز الخرطوم في خلايا النبات وحركته وامتصاص المواد الغذائية.

وهذه الكائنات لها مدى عوائل محدود من النباتات التي تتغذى عليها؛ إذ إنها تتغذى على الأوراق والبراعم والأجزاء الغضة الأخرى من النبات.

وبين الجدول (٨ - ٥) الفيروسات التي تنتقل بواسطة الحلم والعناكب.

جدول (٨ - ٥) : الفيروسات التي تنتقل بواسطة العناكب والحلم وبعض خصائصها.

الفيروس	الناقل	النسبة % للنقل بالعناكب	طرق النقل الميكانيكى
Grasses			
١- فيروس التخطيط الموزايكى فى القمح	<i>Aceria tulipae</i>	٣٤	النقل الميكانيكى
٢- فيروس الموزايك المبقع فى القمح	<i>A.tulipae</i>	٦٥	—
٣- فيروس موزايك الشليم	<i>Abacarus hystrix</i>	٣٠	ميكانيكى
٤- فيروس موزايك الاجروبايرون	<i>A.hystrix</i>	اقل من ١%	ميكانيكى
Woody perennial			
١- فيروس ارتداد النبق الاسود	<i>Phytoptus ribis</i>	< ١%	بالتطعيم
٢- فيروس موزايك التين	<i>Aceria ficus</i>	٧٠%	بالتطعيم
٣- فيروس موزايك الخوخ	<i>Eriophyes insidiosus</i>	٢٠,٥%	بالتطعيم
٤- فيروس عقم الحمام	<i>Aceria cajanus</i>	اقل من ١٠%	بالتطعيم
٥- فيروس تورد الورد	<i>Phyllocoptes fructiphilus</i>	اقل من ١٠%	بالتطعيم

ثامناً : نقل الفيروسات فى حبوب اللقاح :

Pollen transmission of plant viruses

ينتقل عديد من فيروسات النبات من نبات مصاب إلى نباتات سليمة بواسطة حبوب اللقاح Pollen grains حيث تحمل حبوب اللقاح من النبات المصاب بواسطة الحشرات أو الرياح إلى ازهار النباتات السليمة.

وفى تجارب على مرض موزايك الفاصوليا العادى الفيروسى Common bean mosaic وجد بأنه لدى إخصاب إزهار نباتات فاصوليا سليمة بحبوب لقاح من نبات مصاب، كانت البذور المصابة ٢٥% كما نتجت النسبة نفسها، عندما أخذت حبوب اللقاح من نبات سليم واستخدمت لإخصاب أزهار فى نباتات مصابة.

ويعتقد بأن انتقال الفيروسات عن طريق حبوب اللقاح يتم بواسطة الجاميطات الذكورية، التي تتحرك داخل أنبوبة اللقاح التي تخترق الكيس الجنيني، وتتحدد إحدى الجاميطات الذكورية مع خلية البويضة مكونة الجنين، وتتحد الأخرى مع النواة القطبية Pollar nuclei مكونة الإندوسبرم.

هذا... وقد سبق مناقشة انتقال الفيروسات النباتية وإصابة البادرات عن طريق الفيروس المحمول خارج الجنين أو انتقال الفيروسات التي تحمل في الجنين والعوامل التي تؤثر في ذلك عند دراسة طرق انتقال الفيروسات عن طريق البذور.

الانتقال الحشري للمعقد للفيروسات ومعاونها:

Complexes of transmission - Dependent and helper viruses

اعتمدت معظم الدراسات التي تناولت النقل الحشري للفيروسات النباتية على دراسة الإصابة بفيروس واحد محدد حيث تعطى أهمية كبيرة بقدر الإمكان لتحضير الفيروس المسبب للمرض بصورة نقية من أجل تبسيط النتائج المتحصل عليها في التجارب، فغالباً ما يلجأ الباحثون إلى تحضير مستخلص نقي للفيروس من الناحية الوراثية (Clonal purity) غير أنه في الطبيعة نادراً ما يتسبب فيروس واحد بمفرده في إحداث الإصابة، فالشائع أن هناك خليطاً من الفيروسات تتواجد في منطقة الإصابة ووجدت أمثلة كثيرة لفيروسات مرضية وكائنات شبيهة بالفيروسات تتفاعل مع غيرها من الفيروسات بطرق متعددة قد تصل إلى حد الاعتماد على هذا التفاعل للبقاء أو لإحداث الإصابة، ويشير بعض الباحثين أن جميع الصور المحتملة لحدوث هذا التفاعل بين المعقد الفيروسي يحتمل تواجدها في الطبيعة إلا أن أكثر الأمثلة وضوحاً هي تلك الفيروسات التي تفتقد بعض الوظائف الحيوية رغم تواجد مثل هذه الوظائف في فيروسات أخرى ولذا فهي تعتمد عليها، وقد أشارت بعض البحوث الحديثة إلى مثل هذه الظاهرة والتي أطلق عليها الفيروسات التابعة Satellites نتيجة اعتماد بعض الفيروسات في المعقد الفيروسي على غيرها من الفيروسات في أداء بعض الوظائف الحيوية ويطلق على هذه الفيروسات Satellite viruses وأوضح مثال لها هو

الفيروس المسبب لتيكر و سيس الدخان، غير أنه توجد حالات أخرى لا يعتمد فيها الفيروس التابع فقط على أداء الوظائف الحيوية التي يفتقدها ولكن يتخطى ذلك ليعتمد عليه في الانقسام وفترة الحضانة والانتقال عبر الناقل الحشري وفي هذه الحالة تسمى الظاهرة ب-Satel lite RNA molecules، كما في حالة للمعقد الفيروسي المسبب لموزيك الخيار Cucumovirus والمعقد الفيروسي المسبب لمرض الإسوداد الحلقي في الطماطم Nepovirus فكلاهما يعتمد على فيروس آخر للتكاثر (الاستنساخ) مروراً بفترة الحضانة والمساعدة على النقل من خلال ناقل حشري يكون ناقلاً للفيروس المستقل رغم أنه غير معروف كناقل للفيروس التابع، كما توجد حالات أخرى لظاهرة الاعتماد في المعقد الفيروسي حيث يعتمد الفيروس التابع على الفيروسات الأخرى فقط في الانتقال من خلال الناقل الحشري (وليس لزيادة القدرة على التكاثر داخل الأنسجة النباتية المصابة) بمعنى أن هذه الفيروسات التابعة تكون هي المسؤولة عن إحداث المرض ولا يثبت انتقالها سواء بالحشرات أو بالنقل الميكانيكي وتعتمد في الانتشار على فيروسات أخرى تساعدها في الانتقال من خلال الحشرات، وهناك العديد من الأمثلة المتعارف عليها حالياً والتي تؤكد وجود تفاعل بين معقد فيروسي يتكون من فيروس تابع يعتمد في انتقاله على الفيروس الآخر.

تباين المعقدات الفيروسية التي تضم فيروسات تابعة:

Complexes involving transmission defective variants

أ - مجموعة Potyvirus:

تتضمن تلك المجموعة فيروسات تتميز بوجود الحامل النووي بها في جزيئات طويلة قد يصل طول الشريط إلى ٧٥٠ نانوميتر ويمكنها الانتقال ميكانيكياً عن طريق المن بوسائل الانتقال التقليدية (بدون حضانة)، وهذه الفيروسات يكون بها شريط الحامض النووي RNA فردي (ss RNA single stranded) وقد يصل الوزن الجزيئي للحامض النووي إلى ٩,٥ Kb ويوجد بها غطاء بروتيني مميز، وأول من أشار إلى وجود هذه الظاهرة في هذه المجموعة من الفيروسات (Bawden & Sheffield (1944) and Gera et al, (1997)، الذي

تناول أحد فيروسات هذه المجموعة الغير معروف عنه الانتقال من خلال المن والمعروف بغيروس البطاطس (C) إلا أن هذا الفيروس يعتبر الآن سلالة لفيروس البطاطس (Y) بعد اكتشاف انتقاله اعتماداً على غيره من الفيروسات من خلال المن. والاكثر من ذلك أن هناك بعض الباحثين (Kassanis & Govier 1971) يعتقدون أن PVY نفسه لا يمكنه الانتقال من خلال المن اعتماداً على ذاته ولكن اعتماداً على عزلات أخرى يمكنها الانتقال من خلال المن تتواجد في المعقد الفيروسي في الانسجة النباتية المصابة ويعتقد ان الفيروس المساعد في إصابات البطاطس بغيروس لا يحتوى على غطاء بروتيني .

جميع فيروسات هذه المجموعة (Potyviruses) معروف عنها أنها تحتوى على مثل هذا الغطاء البروتيني (Hc or helper component)، كما توجد بها ظاهرة القصور في الانتقال فتعتمد على فيروسات مساعدة ومنها الفيروس المسبب لمرض الموزيك الاصفر في الفول (BYMV) والفيروس المسبب للبشرات على اشجار البرقوق (PPV) (من نفس مجموعة الفيروسات المسببة للحصبة) حيث تشبه البشرات التي تسببها بشرات الحصبة، ومرض تأكل أوراق الدخان (TEV) ومرض الموزيك الاصفر في الكوسة (ZYMV).

في فيروس (PVY) يبدو أن القصور في القدرة على الانتقال لا يرجع إلى فشله في إنتاج البروتين، ولكن إلى اختلافات بسيطة في تركيب البروتين الخاص به عن تركيب البروتين، وقد ثبت ذلك من الدراسات السيولوجية، وبمقارنة تتابع الاحماض الامينية في بروتين Hc المتحصل عليه من فيروسات تنتقل عن طريق المن وتتبع مجموعة الـ Potyviruses وجد أن جميعها يختلف عن التتابع في بروتين Hc حتى PVY، وفي أمثلة أخرى تتعلق بغيروس (TEV) أو (ZYMV) فإن القصور في عملية الانتقال من خلال المن يرجع للغطاء البروتيني للفيروس وليس إلى Hc بروتين، وعلى العموم فقد وجد أن تتابع الاحماض الامينية في غالبية فيروسات هذه المجموعة تتميز بوجود تعديل في نسبة وترتيب الاحماض الامينية الثلاثة الاسبارجين والالانين والجلاليسين في نهاية الغطاء البروتيني وغير موجودة في فيروسات نفس المجموعة التي لا يمكنها الانتقال عن طريق المن وعلى عكس ذلك فبعض

فيروسات (TEV) يمكنها الانتقال عن طريق المن بعد اكتساب بروتين الـ Hc الخاص بـ PVY مما يؤدي إلى الاعتقاد إلى أن التفاعل في هذه الحالة يرجع للتفاعل بين بروتين Hc في كلا الفيروسين.

وقد أشار عديد من الباحثين إلى قدرة بروتين الـ Hc لأحد فيروسات هذه المجموعة في مساعدة غيرها من الفيروسات في الانتقال عن طريق المن (Lecog & Pifrat 1985).

ب - مجموعة Caulimoviruses :

يبلغ الطول هنا حوالي (50 nm) وتحتوي فيروسات هذه المجموعة على شريط مزدوج من الحامض النووي DNA (ds) حوالي 8 Kbp وجزيئات بروتين فردية.

والمعقد الفيروسي المسبب لموزيك القرنبيط CaMV يبدو أنه قابل للانتقال من خلال المن من خلال فترة حضانة (نصف باقي) وتعتمد في ذلك على بروتين الـ Hc بنفس الطريقة التي تم ذكرها في مجموعة Potyviruses فهذه الفيروسات معروفة أنها لا تكون جزيئات بروتين، وقد وجد أن هذا المعقد الفيروسي يمكنه الانتقال من خلال المن إذا احتوى على بروتين Hc من سلالات تنتقل بالمن ووجد أن المن يمكنه نقل هذا المعقد الفيروسي عقب تغذيته على أغشية بلازمية لأنسجة مصابة ببروتين Hc مأخوذ من سلالات يمكنها الانتقال عن طريق المن مثل PVY أو TEV بمعنى أن بروتين الـ Hc المأخوذ من PVY أو TEV هو الذي يلعب دور العامل المساعد في انتقال CaMV من خلال المن.

ومحتوى الفيروس CaMV Hc يكون عبارة عن Kda - 18 بروتين (P18) حيث تساعد تلك البروتينات على حل الشفرة الخاصة بالجينوم الفيروسي وكل من (P18) والمساعدات النشطة تكون متعلقة مع محتويات الخلايا المتضمنة لها I.

وباختبار نوعين من المن الغير ناقل لسلالات الفيروس CaMV اتضح أن واحد منهما يكون اشكال خاصة على النبات من البروتين المعتاد والانتيسيرم (P18) بينما الآخر يكون CM₄ - 184 لمدة أطول مقارنة بالنوع الأول. على أي حال في الخلايا المصابة بسلالات

CaMV يتضح فيها غياب (P18) في الخلايا المحتوية لها، وقد وجد من الأبحاث أن هناك أنواع من المن تحتوي على كميات قليلة من البروتين ORF II حيث شوهدت في زوج فقط من السلسلة المكونة للحمض النووي مختلفة عن سلالات المن الأخرى الناقلة. هذا ويلاحظ أن أى اختلاف في نتائج الأحماض الأمينية المتبادلة من الجليسين إلى الأرجينين يحدث فقد في الوظائف المساعدة.

ج - مجموعة Pea enation mosaic virus :

يبلغ الطول حوالي 28 nm وتنقل بواسطة نوع من المن متخصص في نقلها مثل *Acyrtosiphon pisum* حيث الانتقال يتم بالنسبة للفيروسات من النوع الباقي، ومن أمثلة المعقدات الفيروسية التابعة لهذه المجموعة هذا المعقد الفيروسي المسبب لمرض PEMV فال معروف أن هذا الفيروس لا ينتقل عن طريق المن إلا أن هناك بعض السلالات التي يمكنها الانتقال عن طريق المن.

ويختلف هذا المعقد عن المجموعتين السابقتين في أن المن الذي يكتسب عزلات تنتقل بالمن (T) لا يمكنها نقل عزلات (NT) فالعزلات التي يمكنها الانتقال بالمن (T) تحتوي على حامض نووي فردى ونوعين من البروتين بينما العزلات التي لا يمكنها الانتقال عن طريق المن (NT) يقل الوزن الجزيئي للبروتين الموجود فيها بشكل واضح عن العزلات (T) بمعنى أن هذا المعقد الفيروسي يحتوي على نوع بروتيني يتواجد في العزلات (T) ولا يتواجد في العزلات (NT) ولا يعتمد إطلاقاً على البروتين كما هو الحال في المجموعتين السابقتين.

Complexes involving related viruses with different vector specificities:

كل الفيروسات يمكن وصفها تحت هذا العنوان التي تتبع مجموعة *Luteoviruses*، فالفيروسات تحت هذه المجموعة يبلغ طولها 25 nm ويمكن نقلها بواسطة المن ويمكن وضعها تحت مجموعة الفيروسات الدورية الغير تكاثرية، وكل فرد من هذه المجموعة يمكن نقله

بواحد أو عديد من أنواع المن. وهناك نوعين من الفيروسات التي تسبب أعراض الإصفرار في نبات الشعير فهي تحتاج إلى ناقلات خاصة مثال ذلك فيروس MAV - BYDV تنتقل بواسطة *Sitobion (formerly Macrosiphum) avenae* وفيروس RPV - BYDA تنتقل بواسطة *Rhopalosiphum padi* وفي الحقيقة هذين النوعين من الفيروسات ليس لها علاقة سيولوجية ببعضهما البعض.

ولقد وجد أن فيروس (BYDV) يمكن نقله بواسطة *R. padi* حيث يكون مخلوطاً مع الفيروس الآخر في نفس النبات (نبات الشعير) حيث يحدث خلط بين هذين النوعين من الفيروسات في الإصابة النباتية ويمكن حقنهما من خلال الهيموكول مع مستخلص النبات حيث لا ينتقل فقط فيروس RPV ولكن ينقل أيضاً MAV وفي الواقع أن فيروس MAV لا ينتقل بواسطة *R. padi* نتيجة تغذية الناقل المتكررة على النباتات المصابة حتى لو كان النبات محقون بكل من الفيروسين على حدة أو حتى لو كانا محقونين خليطاً مع بعضهما بصورة نقية.

وفي تجربة أخرى عند معاملة المستخلص النباتي المحتوي على الخليط الفيروسي مع الانتسريم الخاص بـ RPV قبل الحقن أمكن نقله بواسطة المن المختص ولكن لم يمكن النقل عند تكرار التجربة السابقة في حالة استخدام انتسريم MAV.

ومن خلال تلك التجارب يمكن استنتاج أن خليط النباتات المصابة بـ MAV RNA يغلف الـ RPV بغطاء بروتيني حتى يمكن نقله بواسطة *R. padi* هذه الحزمة من الحامض النووي للفيروس MAV لتكوين الغطاء البروتيني للفيروس الآخر RPV هذه العملية تعرف بـ Rns - capsidaiton أو تسمى Phenotypic mixing، وهذا يعني تغليف الحامض النووي للفيروس RPV بخليط من الغلاف البروتيني لكلا الفيروسين.

من الدراسات والملاحظات من خلال استخدام الميكروسكوب الإلكتروني لدراسة المجموعة Luteoviruses من حيث تكوين الغطاء البروتيني لوحظ أن المن *A. avenae* استطاع نقل الفيروس RPV بعد تغليفه بالغلاف البروتيني من قبل الفيروس الآخر MAV.

وهذا يوضح أن تخصص الناقل يعتمد أولاً على الأغلفة البروتينية التي تتكون بواسطة الفيروس.

ميكانيكية الاعتماد Mechanism of depends :

كل الفيروسات مثل كل الكائنات الراقية عبارة عن تجمع من الجينات يعتمد كل منها على الآخر ليستطيع القدرة على البقاء، فلو أن جين توقف عن العمل أو نقص فإن غياب وظيفته يمكن في بعض الأحيان أن تكتسب عن طريق عزلة أخرى من نفس الفيروس أو عن طريق فيروس آخر، وهذه الطريقة تعرف بالتكامل Complementation.

كل الفيروسات المتداخلة النقل هي مثال طبيعي لحدوث التكامل، والفيروس الذي يقوم بالمد للوظيفة المتقدمة هو الفيروس المساعد. فعندما تكون جينات الفيروس موجودة في أماكن مختلفة بالنسبة للمحتوى الجيني المقسم فيكون هناك فرصة لأن تنفصل هذه الجينات ويعاد اتحادها على أجزاء أخرى من المحتوى الجيني، ووفقاً لهذه الاحتمالات فقد وجد بالتجريب إمكانية حدوث هذه الظاهرة على سبيل المثال في موزيك الحيار Cucunovirus، وأيضاً في التبغ الحلقي في العليق Nepovirus حيث أن واحد أو أكثر من أجزاء المحتوى الجيني في أحد هذه العزلات لها القدرة على استقبال الغطاء البروتيني من عزلة أخرى وهذه العملية أو هذا الاكتساب هو انتقال متخصص، وفي الغالب إن هذا النوع من انتقال الجينات أيضاً يحدث في الطبيعة، وهذه ليست خطوة كبرى لهذه الظاهرة التي وجدت في الإصابات المختلفة في بعض Luteoviruses مثل MAV, RPV حيث إن دخول المحتوى الجيني يمكن أن يكون عن طريق الغلاف البروتيني ولهذه الأسباب فإن النقل يكون متخصص جداً من فيروس إلى آخر وهي فقط خطوة بسيطة لإيضاح وظيفة هذه العملية التي وجدت مثلاً بالـ Umbraviruses التي لا تحتوي على ناقل لما تمتلكه من جينات ولكنها تعتمد على أجزاء من RNA تستطيع أن تلتحم بالغلاف البروتيني للفيروسات التي تساعد، عادة الـ Luteoviruses ليحدث النقل عن طريق ناقل متخصص من هذا الفيروس. وهذه الظاهرة (نقل أجزاء من كبسولة الفيروس Transcapsidation) هي أحد الطرق الأساسية في الاعتماد

ومن أهم الطرق التي يعتمد عليها النقل وجدت في الفيروسات التي تحتاج إلى بروتين مساعد Hc وهي عزلات ينقصها وظائف الـ Hc فهي تستعيرها من فيروسات أخرى.

النوع الثالث من التفاعل أكثر دقة عن الطرق السابقة التي وجدت وهو وجد فيه HLV/ HV6 complex التي تلتحم بنهايات القواعد البروتينية لجيناتها وميكانيكية هذه الطريقة غير معروفة ولكنها يمكن أن تعتبر نموذج خاص جداً في التجانس بالنسبة لنهايات الأجزاء البروتينية لها. وأخيراً يوجد هناك GRP يتبعه RNA الذي يمنحه وظيفة غير معلومة لتساعد الـ GRAV الذي يعتمد على النقل عن طريق المن في الـ GRV وهذا سجل فقط تابع من RNA يعمل في هذا الاتجاه ولذلك فإن وجود هذا الـ RNA هو هام جداً ليتم النقل بفاعلية في فيروس اصفرار العروق في البنجر ولو أنه مازال غير معلوم كيفية التفاعل.

الفيروسات الممرضة للنبات التي تفضل وجود فيروسات مساعدة:

Virus groups likely to contain helper viruses

طبقاً للمعلومات المتاحة حالياً فإنه توجد أنواع معينة من الفيروسات الممرضة للنبات التي تعتمد أكثر من غيرها على وجود فيروسات مساعدة لإحداث الحالة المرضية وعلى ما يبدو فإن هذه الأنواع تنحصر في ٣ مجاميع هي:

potyviruses, caulimoviruses and the viruses in the AYV/RTSV/MCDV

ويلاحظ أن هذه المجموعات الثلاثة تنتج بروتين Hc، وكما سبق القول فإن مجموعة فيروسات Caulimoviruses لم يثبت حتى الآن أنها تساعد المن في نقل الفيروسات الغير مرتبطة بهذه المجموعة في الطبيعة، وبالرغم من ذلك فهي على ما يبدو مؤهلة تماماً للقيام بهذا الدور، وينطبق ذلك أيضاً على فيروس MCDV ويتشابه هذا الفيروس مع فيروس AYV، RTSV في الخصائص الجزيئية وثبات العلاقة مع الناقل الحشري إلا أن هذا الفيروس MCDV يدفع عملية تكوين ما يعرف بـ inclusion bodies في خلايا الناقل الحشري ولقد وجدت

جزيئات بروتين هذا الفيروس وكذلك فيروس AYW في أماكن محددة في انسجة Leafhop pers في نطاقات الأوراق، وهذا التشابه يدعو للاعتقاد بأن الفيروس MCDV قد يكون مكوناً للبروتين Hc بالرغم من عدم وجود أى أدلة على ذلك. وتشير الدراسة إلى أن هذا الفيروس بالذات MCDV قد يكون قادراً على مساعدة نطاقات الأوراق في نقل الفيروسات الغير قادرة على إحداث الإصابة بدون مساعدة خارجية، ونجدد الإشارة إلى أن هناك مجموعة أخرى من الفيروسات تعرف بـ Luteoviruses تحتوى على العديد من الفيروسات التى تستطيع أن تلعب دور الفيروسات المساعدة، إلا أن ميكانيكية الاعتماد فى النقل فى هذه المجموعة تنحصر فى النقل الميكانيكى العشوائى ولا توجد أسباب مقنعة لتفسير السؤال التالى لماذا لا يتم نقل الفيروسات الغير باقية، والفيروسات النصف باقية يمثل هذه الطريقة من ميكانيكية النقل، فلا توجد بحوث بهذا الخصوص سوى بحث واحد عن نقل فيروس ZYMV التابع لمجموعة Potyvirus والذى ينتج فى خليط من الفيروسات. وبهذا الخصوص يعتقد ان هناك علاقة ما بين أطول جزئيات الفيروس خاصة فى العلاقة بين فيروس HLV، HV6 فالفيروسات ذات الجزيئات الطويلة تعمل غالباً كفيروسات مساعدة للفيروسات ذات الجزيئات القصيرة.

مجاميع الفيروسات الممرضة التى تضم فيروسات غير قادرة على الانتقال الذاتى:

Virus groups likely to contain dependant viruses

يمكن القول بصفة عامة بأن مجموعة فيروسات Umpraviruses تضم عديد من فيروسات باقية ويمكنها التكاثر داخل انسجة الناقل الحشرى Aphid borne viruses وتدخل هذه المجموعة Luteoviruses بصفة أساسية ضمن الفيروسات التى ينقلها المن ويمكن تعميم القول بأن أى فيروسات تشابه هذه المجموعة فى الخصائص العامة لجزيئات الفيروس يمكنها أن تنتقل بالمن وتعتبر من الفيروسات المعتمدة وهذه الخصائص تنحصر فى:

١ - عدم وجود جزيئات تشابه الفيروس فى المستخلصات النباتية لنباتات معدية ميكانيكياً.

٢ - قلة الذوبان في المذيبات العضوية .

٣ - إمكانية تحضير جزيئات الحامض النووي RNA من أوراق مصابة بشدة .

٤ - وفرة جزيئات الحامض النووي المزدوج RNA في الأوراق المصابة بشدة مع تشابه البروتين المفصول بطريقة الفصل الكهربى مع بروتين فيروسات هذه المجموعة .

واكتشاف معقد الفيرس HV6، HLV أدى إلى اقتراح أن أى فيروسات لا يمكنها الانتقال بطريقة مستقلة يمكن أن تتواجد فى مجاميع فيروسية أخرى خاصة تحت مجموعة ACLV وهى فيروسات غير معروف طرق النقل فيها فيما عدا الفيرس Grape vine virus والذي يصيب العنب والمعروف أنه ينتقل عن طريق الخنافس فى إسبانيا، كما ذكر العالم زابالجو جيزاوا وآخرون (عام ١٩٩٧) Zabalgoatzea et al، ويؤكد هذا الاعتقاد أن فيروسات ACLV تتشابه فى خصائص جزيئاتها مع فيروس HLV وانها تنتمى إلى مجموعة GVA (التي تعتمد على طرق الفحص السيولوجية) .

وعلى ما يبدو فإن الفيروسات غير المستقلة تميل للتواجد كعزلات غير مؤثرة داخل مجموعة الفيروسات المنتجة للبروتين Hc .

الباب التاسع

وبائية فيروسات النبات

Epidemiology of Plant Viruses

وبائية فيروسات النبات

Epidemiology of Plant Viruses

لدراسة مقاومة الأمراض الفيروسية، لابد أن نتعرف العوامل العوامل التي تؤثر على بقاء الفيروس واحتفاظه بخصائصه؛ فحتى يتمكن الفيروس من البقاء لابد من توافر العوامل المناسبة التي يتكاثر فيها. وكذلك لابد أن تتوافر له وسيلة فعالة للانتقال والعدوى، وكذا لابد أن يتوافر له احتياطي مناسب من العوامل الأخرى، التي يمكن أن ينتقل منها وإليها.

كما أن العامل المحدد لوجود وانتشار فيروس معين في مكان محدد أو حتى على مستوى العالم يأتي محصلة لمجموعة من العوامل الطبيعية والبيولوجية.

وفي هذه الحالة سندرس أهم هذه العوامل باختصار، مظهرين بوضوح أكثر الوسائل التي يؤثر أي عامل منها على العامل أو العوامل الأخرى، وبالتالي تؤثر على انتشار الفيروس وبقائه. من المعلوم أن فهم إيكولوجيا المرض الفيروسي «العوامل البيئية» في محصول محدد، وفي مكان محدد أمر مهم، بالنسبة لاستنباط الوسائل الفعالة لمقاومة هذا الفيروس واتقاء الأضرار المتسببة عنه.

والفيروس كغيره من الطفيليات الإجبارية، فإن العوامل البيئية العامة التي يجب دراستها تنحصر أساساً في طرق انتقال الفيروس من نبات لآخر، وكذا الطرق الأخرى التي تتمكن بها العوامل الأخرى من التأثير على انتشار الفيروسات.

وتنحصر هذه العوامل في :

أولاً : العوامل البيولوجية :

١ - خصائص الفيروس والنبات العائل :

أ - ثبات الفيروس وتركيزه في النبات :

في أغلب الأحوال، فإنه في الظروف المتشابهة، فإن الفيروس الثابت يكون ثابتاً سواء كان داخل أو خارج العائل، ويصل في أنسجة العائل إلى تركيزات عالية؛ مما يعطيه فرصة أكبر

فى البقاء والانتشار اكثر من الفيروس، الذى لا يملك مثل تلك الصفات. فمن الواضح أن بقاء الفيروس وقدرته على الانتشار تتوقف لحد كبير على درجة ثبات الفيروس وكميته أو تركيزه، الذى يصل إليه عن طريق التزايد العدوى فى أنسجة العائل. فعلى سبيل المثال فإن فيروس TMV يمكنه أن يحتفظ بخصائصه الحيوية لفترات طويلة فى الأنسجة الميتة أو بقايا العائل فى التربة، التى تصبح فى هذه الحالة مصدراً للعدوى للمحاصيل التالية.

ب - سرعة تحرك الفيروس وانتشاره فى أنسجة العائل :

إن الفيروسات أو السلالات التى تتحرك ببطء من مناطق العدوى إلى أنسجة النبات الأخرى تكون فرصتها فى البقاء ضعيفة، وبالتالي تقل فرصتها فى الانتشار بعكس تلك الفيروسات، التى تتحرك بسرعة من مراكز العدوى. كما أن سرعة انتقال الفيروس من مناطق العدوى تلعب دوراً مؤثراً ومهماً، بالنظر إليها من ناحية فترة استمرار حياة النبات العائل.

إن الفيروسات التى تصيب النباتات المعمرة، أو التى تعيش طويلاً يمكنها أن تنتشر خلال أنسجة النبات بصورة أبطأ من تلك التى تصيب المحاصيل الحولية. وبعض الفيروسات الثابتة مثل TMV الذى يتجمع فى تركيزات عالية، عندما يصيب عوائله الأساسية مصيباً كل الأنسجة، فإن له القدرة على الانتقال بواسطة وسائل العدوى الصناعية الميكانيكية.

كما أن الفيروسات التى تصل إلى البذور، وتبقى بها تملك خصائص مميزة بالنسبة لغيرها من الفيروسات فيما يتعلق بانتشارها، وكذا امتلاك القدرة على البقاء فترة طويلة.

كما أن فيروس نيكروز الدخان يتحدد انتشاره بوصوله إلى المجموع الجذرى للعوائل المختلفة، وكذا يتحدد بقاؤه بوجود الفطريات الحاملة له، والتى تنقله حتى يمكن أن يصيب نباتات أخرى.

ج - درجة العدوى :

إن فرص بقاء الفيروسات سريعة الانتشار فى أنسجة العائل مسببة عدوى جهازية ومؤدية إلى موت النبات، تكون أقل من تلك الفيروسات التى تسبب أمراضاً متوسطة أو شديدة، وتسمح للعائل بالنمو الخضري والتكاثر.

ومن الممكن أنه يكون موجوداً في الحقل انتخاب طبيعي موجه ضد السلالات القاتلة للنواقل. وقد لوحظ أن الخنافس الموجودة في غرب الولايات المتحدة تصاب في البداية بسلالات من فيروس تجمع القمة في بنجر السكر، التي تحدث أمراضاً خفيفة، وبالتالي تصبح الفرصة أكبر للسلالات الشديدة من ذات الفيروس وتسبب تقزماً للنباتات، وهذا بدوره يشجع على انتشار وتكاثر الناقل. إلى جانب ذلك فإن انتشار السلالات الشديدة يشجع على الاعتقاد بأن الإصابة بالسلالات الضعيفة لا يمكن أن يحمي العائل من العدوى بالسلالات الشديدة. وتعيش الخنافس بالقرب من حقول بنجر السكر ناقله السلالات الشديدة بصورة أكبر من السلالات الضعيفة المحمولة بداخلها.

د - بقاء الفيروس وانتخاب السلالات :

إن الفيروسات ذات القابلية الكبيرة للتطفير وتكوين السلالات الجديدة تكون لها القدرة على التأقلم والتكيف مع التغيرات التي تحدث في الوسط المحيط، وبذا يمكنها الاستجابة للوسط الجديد والبقاء والانتشار. ومحاولة إيجاد مقارنة بين الفيروسات من حيث قابليتها للتطفير أمر صعب، ولكنه من الواضح أن الفيروسات تختلف فيما بينها من حيث هذه القابلية فعلى سبيل المثال فإن فيروس التفاف أوراق البطاطس ثابت نسبياً على أنه من الممكن أن يكون ذلك راجعاً إلى نقص في التجارب التي أجريت على دراسة هذا الفيروس من هذه الناحية. بينما نجد أن فيروسات أخرى كثيرة مثل التبغ البرونزي في الطماطم توجد في الطبيعة في صورة عدد كبير من السلالات، وتتجمع معلومات كثيرة تؤكد أنها سلالات مختلفة لهذا أو ذاك من الفيروسات. كما توجد معلومات كثيرة تؤكد أن السلالات المختلفة للفيروس يمكن أن تختلف من حيث السيادة، ومن حيث أنه يمكنها إنتاج طفرة محددة أخرى. وعلى سبيل المثال فإن السلالات الضعيفة من فيروس X البطاطس المعزولة من البطاطس، من الممكن أن تعطى بداية لسلالات تسبب التبغ الحلقي في الدخان، ولكن لم يحدث أن لوحظت هذه الصفة في أي من السلالات التي تسبب مظهر التبغ الحلقي المعزولة بداية من الطماطم.

كما يلاحظ أن إحدى سلالات فيروس TMV، وهي سلالة aucuba تكون مجموعة

محدودة من الطفرات تختلف فيما بينهما من حيث الاعراض التي تسببها، في حين أن السلالة العادية لفيروس TMV يمكن أن تعطي دائرة واسعة من الطفرات من طراز مختلف تماماً.

وفي الحقل.. فإن السلالات المختلفة لفيروس TMV يمكنها أن تصيب أنواعاً وأصنافاً مختلفة من الدخان، ومن الممكن أن يكون العامل الاساسى في ذلك، هو أن هذه أو تلك من السلالات التي تصبح سائدة في عائل معين، تملك سرعة التحرك في أنسجة العائل، وبالتالي فإنها تمنع الإصابة بسلالات أخرى.

وفي المناطق التي يزرع بها المحاصيل الحولية مثل الدخان على مدى عدد كبير من السنين، فمن الممكن أن تسود سلالات مميزة من الفيروس. فلقد أوضح Valloa Ganson أن في المناطق التي يزرع بها الدخان لعدد كبير من السنين وجد أن المزارع المختلفة تسود بها سلالات مختلفة، أى سلالة متميزة لكل مزرعة من فيروس TMV. وفي المساحات الواسعة فإن العزل الجغرافى يمكن أن يؤدي إلى التفرقة أو عزل السلالات، خصوصاً إذا ما كانت الظروف المناخية مختلفة، فعلى سبيل المثال ففي البلاد التي تتمتع بصيف حار، من الممكن أن يفقد الفيروس حتى داخل الأنسجة الحية في الظروف الطبيعية، ومثال ذلك أنه في بعض مناطق الهند فإن درنات البطاطس التي تخزن في المخازن العادية، من الممكن أن تشفى من فيروس التفاف الأوراق، بينما الدرنات التي تخزن في الثلاجات تظل حاملة للفيروس، وكذا الحال بالنسبة لنباتات الشليك التي تزرع في أمبريال فالى كاليفورنيا؛ حيث تشفى من فيروس تجعد الشليك.

وليس نادراً ما يلاحظ التغيرات الجغرافية التي تسبب سيادة إحدى سلالات فيروس ما، فقد اكتشف زوخوف وآخرون أن هناك اختلافات في السلالات السائدة من فيروس التقزم الاصفر في الشعير الذى وجد في نباتات الشوفان المنزوع بولايتى ألينوى ونيويورك، وهذا الاختلاف ظهر في الناقلات الرئيسية «المن»، ومدى ظهور الاعراض أو شدة المرض، ومع ذلك فإنه ليس هناك ما يدعو إلى الاعتقاد ان هذا الوضع غير قابل للتغيير؛ حيث أثبت زوخوف أن السلالات السائدة على الشعير في ولاية نيويورك قد تغيرت.

كما أن العمليات الزراعية من الممكن أن تلعب دوراً ما بطريقة أو بأخرى في انتخاب السلالات الفيروسية، التي تصبح سائدة بالنسبة لهذا أو ذاك من المحاصيل، فعلى سبيل المثال في إحدى الولايات التي تزرع صنف البطاطس أران Arran أدت أساليب الزراعة وانتخاب هذا الصنف إلى تغير سلالة فيروس X البطاطس، التي كانت تصيب هذا الصنف. مظهره أعراض التبرقش. ولقد أدى اقتلاع النباتات التي تظهر عليها أعراض التبرقش إلى سيادة السلالات الكامنة أي التي لا تظهر أعراضاً، ولكن أحياناً يظهر انتشار غير متوقع لهذه السلالات الكامنة، مظهره أعراضاً شديدة مما يؤدي إلى الاعتقاد بوجود علاقة غير ثابتة بين الفيروس والعائل.

وإذا ما استخدمت سلالة عديمة الأعراض من فيروس X في عدوى نبات بطاطس سليم، فإنه لا ينتظر ظهور أعراض في السنة نفسها، بينما يأخذ الوضع في السنة التالية صورة أخرى.

وفي الحالات التي تشكل فيها الحشائش المعمرة ونباتات الزينة مصدراً، تنتقل منه العدوى الفيروسية إلى أحد محاصيل الحقل الحولية، فإذا ما تغير هذا المحصول بمحصول آخر فإنه من الممكن أن يصاب بسلالات من هذا الفيروس، التي لم تكن تصيبه من قبل.

وإذا كانت العمليات الزراعية لبعض المحاصيل وغيرها من العوامل، تتم لوقت طويل في منطقة ما دون تغير، فمن الممكن أن تنتظر أن العلاقة الثابتة بين المحصول والظروف المحيطة تؤدي إلى انتخاب السلالات، الذي يستمر حتى الوصول إلى السلالة السائدة؛ أي السلالة المتأقلمة مع ظروف الوسط والمحصول.

ومن هنا نرى أن العوامل الأساسية في ظهور السلالات هي ما يلي:

- ١ - الانتقال النشط بالحشرات أو بعوامل أخرى.
- ٢ - التزايد العددي السريع وكذا سرعة التحرك في أنسجة العائل.
- ٣ - ظهور الأشكال المرضية الضعيفة والشديدة.

عند دراسة توزيع الفيروسات حسب الوحدات التقسيمية للمملكة النباتية، نجد أن أقدم المجموعات النباتية وأقلها تطوراً لا تصاب إلا بعدد قليل من الفيروسات، وقد أيد ذلك عدد من البحوث، ويعتقد أن أحد أسباب ذلك أن النظائر الحية لحفريات هذه النباتات القديمة مازالت موجودة، ومن الممكن أن تكون هذه النباتات قد اكتسبت نوعاً من المناعة أو المقاومة لمختلف الكائنات الدقيقة الممرضة والحشرات، وأيضا الفيروسات، وعلى سبيل المثال.. فإن شجرة *Ginkgo biboba* التي تنتمي إلى عاريات البذور توجد منذ ٢٠٠ مليون سنة، وتملك مقاومة عجيبة ضد الإصابة بالفطريات. وقد وجد أن العصير المستخلص من هذه الشجرة يحتوى على مواد مثبطة لنمو الفطريات، وكذا مثبطة لبعض الفيروسات، وفيما يلي موجز لتوزيع الفيروسات على المجموعات الدنيعة من المملكة النباتية:

أولاً : الطحالب:

إلى جانب بعض الفيروسات التي تصيب الطحالب الزرقاء المخضرة لم يعرف حتى الآن فيروسات تصيب بقية هذه المجموعة من النباتات، إلا أنه في الآونة الأخيرة، وعلى أساس الدراسات المتقدمة البيوكيميائية ودراسة التراكييب المنتهية الدقة لبعض الطحالب الزرقاء المخضرة، أثبت أن هذه الطحالب قريبة الشبه جداً بالبكتيريا، أكثر من قربها لبقية أقسام الطحالب، ولذا فقد اتضح أن فيروسات الطحالب الزرقاء المخضرة تشبه البكتريوفاج من حيث أن لها رأساً سداسياً وذنباً.

ثانياً : الفطريات:

لقد تمكن Hollings سنة ١٩٦٥ من أن يستخلص من فطر *Agaricus bisporus* مستحضراً يحتوى على جسيمات شبيهة بالفيروسات في ثلاثة طرز، وأوضح أنه عن طريق حقن هذه الجسيمات في الحامل الجرثومي، فإن هذه الجسيمات تسبب أمراضاً. فالفيروس رقم ١ عبارة عن جسيمات عديدة الاضلاع قطرها ٢٥ مليميرون، بينما جسيمات الفيروس رقم ٢ تشبه رقم ١ إلا أن قطرها ٢٩ مليميرون، أما الفيروس رقم ٣ فقد ظهر

فيروسات النبات

عصياً ٥٠×١٩ مليميكرون يشبه إلى حد كبير فيروس موزايك البرسيم. وقد استخدم المؤلف مستخلص الفطريات المربعة كلقاح، ثم دك أوراق بعض النباتات مغطاة البذور، ومنها عوائل فيروس موزايك البرسيم، ولكن لم تظهر لدى أى منها أى مظاهر مرضية. وعند دراسته لكيفية إصابة بعض الحوامل الجرثومية للفطر المذكور، فلقد ظهر فى الاطباق التى ينمو فيها الفطر مناطق مميزة حول مراكز العدوى، وإلى جانب مراكز العدوى توجد منطقة مركزية لا ينمو بها الفطر، اللهم إلا بعض الهيفات المشوهة بينما المنطقة التى تحيط بالمنطقة المركزية تحتوى على عدد كبير من الأجسام الثمرية غير الكاملة النمو، والتى تتحلل مبكراً. وإلى الخارج من هذه المنطقة تبدو جميع الفطريات، كما لو كانت سليمة ويظهر المرض لدى عدد قليل منها.

وحتى الآن لم تعرف العلاقة بين هذه الطرز الثلاث من الفيروسات وإحداث المرض، ثم تمكن Hollings من ابتكار طريقة سهلة لاستخلاص الفيروس من عدد قليل من الهيفات الفطرية، مستخدماً الموجات فوق الصوتية، وهنا أمكن استخلاص فيروس ١، وفصل الباقي إما مفردة أو مختلطة، بينما وجد الفيروس الثالث مختلطاً مع الجزيئات ذات الشكل عديد الاضلاع.

وقد تمكن Klienschmidt سنة ١٩٦٢ من استخلاص مادة ما من راسع مزرعة *Penicilium Stäudingeri* (سلالة ATCC - 14586)، وهذه المادة لعبت دوراً مشبطاً للفيروسات التى تصيب الحيوانات أو مزارع الأنسجة، وقد أطلق على هذه المادة اسم Statalon واعتبروها من السكريات العديدة، حيث تنشط تكون الانترفيرون «مضادات الفيروس».

إلا أن Klienschmidt و Ellis تمكنا من العثور على جزيئات شبيهة بالفيروسات من مستحضرات الـ Statalon وكذا فى ميسيليوم الفطر المذكور، واستخلصا من ذلك فكرة تتلخص فى أن الاثر المنشط لمستحضر Statalon فى تكوين انترفيرون يرجع أساساً إلى وجود الفيروس.

ثم تمكن Banks وآخرون من الحصول على نتائج مؤكدة، حينما تحصلا على كمية كافية

من الجسيمات الفيروسية العصبية ذات المقاييس ٢٥ - ٣٠ ملليميكرون من مزرعة الفطر المذكور، وتوصلا الى أن كفاءة المستحضر Statalon للمضاد للفيروس ترجع الى وجود RNA الفيروس، الذى يشجع تكون الانتريفيرون عند الفعران. كما امكن عن طريق معاملة جراثيم السلالة المذكورة بالحرارة ظهور سلالة جديدة من الفطر لا تملك الفيروس.

كما توجد معلومات أخرى عن إمكانية انتقال العدوى للفطريات، التى قد تعرف فيما بعد بمزيد من الدراسات على أنها فيروسات. فعلى سبيل المثال ذكر Liydenburg سنة ١٩٥٩ أن فطر *Helminthosporium Victoriae* يصاب بمرض يمكن أن ينقل إليه ميكانيكياً؛ فعُدوى مزارع هذا الفطر النامية على الآجار لم تؤد إلى موتها، ولكن ظهر على حواف المزرعة توقف نمو الفطر، وظهر بنسليوم هوائى، أو تحلل، وحينما وضعت على طبقة الآجار نفسها هيفات مصابة، وأخرى سليمة على بعد ١ سم بين الواحدة والأخرى، فقد لوحظ أن نمو العزلة السليمة قد تهدم بعد ساعات قليلة من الاتصال بالعزلة المصابة، وقد اعتقد وقتئذ أن هذا التأثير يرجع إلى وجود توكسين معين، ولكن عندما أخذت هيفات من العزلة التى كانت سليمة وأعيدت زراعتها، ظهرت إصابتها بالمرض مما يدل على وجود مسبب مرضى «فيروسى» وليس توكسيناً. ولا تحدث العدوى إلا عندما تتلامس الهيفات المصابة والسليمة، ولكنها لم تحدث عند غمر الهيفات السليمة فى مستخلص الهيفات المصابة.

كما تعرف حالة أيضاً فى فطر الأسبيرجلس تسمى بحالة الموت الخضرى تعرف عليها Jinks سنة ١٩٥٩ فى فطر *A. glaucus* وأطلق عليها *Lethal suppressive cytoplasm*. فعندما يزرع هذا الفطر بطريقة *hyphal tip* من مزرعة قديمة، فإن كثافة النمو تقل ثم تظهر مناطق معينة على الهيفات، وعندما يتم التكاثر الجنس بين السليم والمصاب فإن جميع الناتج يكون مصاباً بهذه الظاهرة.

ثالثاً: الخزازيات:

لم تعرف فيروسات تصيب الخزازيات بعد.

رابعاً : التيريديات :

لم يكتب فى ذلك سوى Hull عن انه وجد فى منطقتين فى إنجلترا فيروساً يصيب نبات *Phyllitis Scolopendrium*، وغيره من السرخسيات .

خامساً : معرة البذور :

يعرف عدد من الفيروسات التى تصيب النباتات مغطاة البذور، يمكنها أيضاً أن تصيب معرة البذور، ففي الطبيعة يلاحظ لدى أفراد هذا القسم أمراض تشبه الامراض الفيروسية، والى يعتقد أن مسبباتها تنتمى الى الفيروسات، وقد أثبت Yarwood أن جذور نبات *pinus sylvestris* تصاب بالعدوى الميكانيكية الصناعية بفيروس نيكروزيس الدخان TNV، كما أن النيماتودا يمكن أن تنقل فيروسات من مجموعة اللوزايك إلى نوعين من أنواع الصنوبريات، وقد وجد (Hartiso) أن نيماتودا *X.diversicadatum* يمكن أن تنقل فيروس موزايك الارابيس إلى جذور *Chamascyparis lowsoniana*، وبببدو ان هذا الفيروس يصيب الجذور فقط، ولم يمكن عزله من الجذوع والاوراق، وفي تجارب مشابهة تمكنت نيماتودا من جنس *Longidorus*، من نقل فيروس TBRS الذى يسبب التبقع الحلقي الاسود فى الطحاطم إلى جذور نباتات *Picea stichensts* .

وفىما يتعلق بانتشار فيروسات معرة البذور فى الطبيعة، فهناك كتابات عن أمراض *Picea evcelsa* حيث يظهر المرض على القلف، فى صورة اصفرار مخضر، أو اصفرار يميل إلى البياض، ثم يختفى فى المراحل المتأخرة، ولكن يتأخر نمو النبات، وتصبح الاشواك أكثر قصراً وتنمو دون انتظام، كما أن Bino Popovitch ذكر مرضاً يصيب *Pinus nigra*، تنحصر أعراضه فى تشوه الاوراق البرية، كما تظهر أعراض التبرقش، ويعتقد الباحثان أن هذا المرض يتسبب عن فيروس .

مما سبق يتضح دور الفيروس فى إصابة مختلف أقسام المملكة النباتية، أما هنا فيهمنا أن ندرس العوامل التى تربط بين حيوية الفيروس وانتشاره تحت الظروف الحقلية بالمدى العوائل من بين النباتات .

ومن الواضح أن الفيروسات تختلف فيما بينها اختلافاً كبيراً من حيث المجال العوائلى الذى تصيبه. فعلى سبيل المثال فإن الفيروسات التى تصيب الشليك يكون مجالها العوائلى محدوداً بجنس *Fragaria*، بينما نجد أن فيروسات أخرى يمكنها أن تصيب مجالاً واسعاً من النباتات، وعلى سبيل المثال فإن فيروس التبقة البرونزى فى الطماطم يتميز باتساع مجاله العوائلى، حيث تصيب نباتات تتبع ذوات الفلقة الواحدة، وأخرى تتبع ذوات الفلقتين، ومن المعروف أن هذا الفيروس يصيب نباتات ١٦٦ نوعاً تتبع ٣٤ عائلة نباتية، ويقع الجانب الأعظم من النباتات الحساسة لهذا الفيروس فى العائلتين الصليبية والمركبة.

الفيروسات ذات المجال العوائلى الضيق تبقى لأن عوائلها فى أغلب الأحوال تكون معمرة وتتكاثر خضرياً، وإن تكاثرت بالبذور، ففى الغالب فإن هذه الفيروسات تنتقل خلال البذور.

فيروس الاصفرار النيكروزى الذى يصيب خس اللاتوكا فى أستراليا يبقى فى الطبيعة على حساب عوائل، تتبع جنس *Sonchus* فقط، وعند زراعة خس اللاتوكا، أصبح هذا الفيروس فى السنوات الأخيرة يشكل خطراً عليه، ويعتقد *Stubs* أن هذا يرجع الى النقص الكبير الذى حدث فى الأرناب البرية، التى كانت تتغذى على عوائل هذا الفيروس؛ مما شجع هذه العوائل على النمو، وبالتالي أصبحت مخازن للفيروس، الذى أصبح يهدد زراعات الخس فى أستراليا.

إن المجال العوائلى الواسع يعطى للفيروس فرصاً أكبر للبقاء وللانتشار الواسع؛ حيث إن مثل هذه الفيروسات تصيب النباتات المعمرة والمحاصيل الحقلية الحولية، وبذا يمكنها أن تنتشر فى جميع أنحاء الكرة الأرضية، وتعتبر الفيروسات التالية من الأمثلة الرئيسية على ذلك:

١ - فيروس التبرقش الاصفر فى الفاصوليا - فيروس تبرقش الخيار حيث يعتبر الجلادبولس أكبر مخزن لهما.

٢ - فيروس التبقة البرونزى فى الطماطم الذى يخزن فى الداليا، أو فى جنس *Georgina*

التي تصاب أيضاً بفيروس تبرقش الخيار، ولكن دون ظهور أعراض.

٣ - فيروس تبرقش الخيار الذي يخزن في نبات الزينة الزنبق *الفلد*، ولكن دون أن يؤثر على العائل.

إن أغلب النيماتودا والفيروسات التي تنتقل بواسطتها، يتمتعان بمجال عوائل واسع للغاية، يضم نباتات معمرة وأخرى حولية، حتى ولو لم يوجد العائل المناسب فإنهما يبقيان على البقايا الخشبية الموجودة بالأرض، أو البقايا مما يحقق بقاءهما.

انتشار الناقلات :

من المعروف في علم الفيروسات النباتية أن الناقلات الحشرية والفطرية، تعتبر من ناقلات الفيروس المهمة. ومن وجهة النظر الإيكولوجية، يفضل توجيه الحديث إلى مجموعتين من هذه الناقلات، وهما :

١ - ناقلات فيروسية خلال التربة «من جذور نبات مصاب الى جذور نباتات سليمة».

٢ - ناقلات فيروسية خلال الوسط الهوائي.

وهنا يجب أن تتناول الدراسة انتشار الفيروسات في مساحات واسعة، وإلى مسافات بعيدة المدى. وهنا يلعب الإنسان دوراً مهماً إلى جانب نقله الميكانيكي ونشره للفيروسات في حدود حقله.

أولاً : انتشار الفيروسات خلال الوسط الهوائي :

إذا ما قُيِّمنا الفيروسات النباتية، فإنه يمكن القول أن العامل الرئيسي بلا أدنى شك في نشر الفيروسات، وبالتالي في حفظ بقائها، هو الحشرات الماصة لعصير النباتات، وعلى وجه الخصوص حشرات المن. وهنا طريقة نشر الفيروسات وسرعة، ومدى الانتشار يتوقف على عدة عوامل، نذكر منها ما يلي :

١ - مصدر اللقاح المعدى : يمكن للجوهر المعدى أن ينتقل من خارج المزرعة أو المحصول أو من النباتات المصابة الى السليمة في الحقل نفسه. وقد يكون مصدر تلك النباتات

المصابة هو البذرة المصابة، إذا كان المحصول يتكاثر بالبذور الحقيقية، أو عن طريق الأجزاء الخضرية إذا كان يتكاثر خضرياً، وإما أن يكون مصدره الحشائش وغيرها من النباتات التي قد تتواجد مع المحصول.

٢- الجرعة الفعالة من اللقاح المعدى.

٣- طبيعة وطريقة حياة الناقل فعلى سبيل المثال فيما يتعلق بالمن من العوامل المهمة، ما إذا كان هذا المن مجتمعاً أم لا.

٤- العلاقة البيولوجية بين الفيروس والناقل الحشرى، فكما سبق أن عرضنا فهو إما أن ينتقل عن طريق أجزاء الفم، أو أن يكون ماراً أو متكاثراً داخل الحشرة.

٥- الوقت الذى يصبح فيه الناقل نشطاً وفعالاً فى النقل، ومواعة ذلك مع مواعيد زراعة هذا أو ذاك من المحاصيل.

٦- الظروف الحيوية أو المناخية.

وفى واحد من البحوث الأولى، حيث تم تقييم علاقة انتشار الفيروس بكمية المن وأعدادها، قدرت أعداد المن على النبات فى أوقات مختلفة على مدى موسم النمو الخضرى للنبات، وغالباً ما كانت العلاقة بين أعداد المن ونسبة انتشار الفيروس غير واضحة على وجه الدقة.

إلا أن Gregory & Doncesrter سنة ١٩٤٨ توصلا إلى خلاصة مهمة، وهى أن الأهمية ترجع الى المن الجناح، والذى يهاجر متنقلاً بين النباتات فى مساحات منزرعة بمحصول معين فى بداية موسم النمو الخضرى. بينما تتوقف أعداد المن الساكن «غير الجناح» على النباتات إلى حد كبير على الظروف الجوية. والظروف الأخرى المحيطة بزراعة هذا المحصول أو ذاك. إن أعداد المن يمكن أن تتضاعف عشر مرات خلال أسبوع واحد، وحتى فى المساحات الصغيرة فإن أعداد المن عموماً تختلف من نبات لآخر. وفى البحوث التالية توصل الباحثان الى حقيقة أن المن المهاجر فى بداية موسم النمو الخضرى من أهم العوامل فى نشر الفيروسات.

فام Broadbent & Eaithcote سنة ١٩٦١ بزراعة درنات البطاطس السابق إنباتها فى

فيروسات النباتات

قصارى، ثم قاما بوضع هذه القصارى فى الحقل على مسافات محددة، وفى مواعيد محددة خلال موسم النمو الخضرى، قاما بعدوى هذه النباتات «التي فى القصارى» بفيروسات التفاف الاوراق أو بغيروس Y البطاطس، ثم قاما بدراسة أعداد المن وكميته، ثم حددا النباتات التي أصيبت خلال الحقل. ووجد أن هذه الفيروسات انتقلت فى بداية موسم النمو الخضرى، حينما كانت أعداد المن ضئيلة، ولم يمكن الانتقال فى وسط الموسم حينما كانت أعداد المن كبيرة، ومن الممكن جمع المن المنجح المتجمع على محصول ما، ثم اختياره على عوائل أخرى، سواء من المحصول نفسه، أو من غيره لمعرفة ما إذا كانت هذه الحشرات حاملة لفيروس ما أم لا.

كما أن طبيعة انتقال «انتشار» الفيروسات تختلف من فيروس لآخر فى حدود واسعة، حتى بين تلك الفيروسات التي تصيب المحصول نفسه، والتي تنتقل بأنواع الناقلات نفسها، أو بأنواع مختلفة منها فى الحقل نفسه؛ حيث فى الموسم التالى تتضح طبيعة انتشار كل من فيروس التفاف الاوراق وY البطاطس، فإذا ما جاء الفيروس الى المزرعة من الخارج بواسطة الناقلات، فليس من الضروري أن ينتشر من مصدر داخل الحقل نفسه. ويمكن ملاحظة أن انتشار الفيروس داخل حقل معين انتشاراً غير ملحوظ أو غير كبير. وهذا يحدث إذا تم الانتقال فى نهاية موسم النمو الخضرى، أو يرجع ذلك إلى أن الناقل سريع الهجرة أو سريع الحركة.

وعلى سبيل المثال كما سبق أن ذكرنا حيث يتضح من حقلين : أحدهما كان خالياً منذ البداية من الإصابة بغيروس Y البطاطس، وكان مصدر الإصابة على مسافة عدة معات من الامتار يلاحظ أن توزيع النباتات التي أصيبت فى الحقل كانت دون انتظام أى عشوائية.

وعندما وضع فى منتصف الحقل فى بداية موسم النمو نبات بطاطس واحد مصاب بغيروس التفاف الاوراق، وحتى تنتقل الإصابة من نبات لآخر فى الحقل نفسه؛ فقد لوحظ هنا أن النباتات التي أصيبت تتجمع حول مصدر الإصابة. وعلى هذا الأساس يمكن

التعرف عما إذا كانت الإصابة ذات مصدر داخلي أو خارجي بعيداً عنه .

وقد ابتكر Van der plank سنة ١٩٤٦ طريقة يمكن بواسطتها تحديد ما إذا كان الفيروس ينتقل من نبات مصاب في حدود الحقل أم من خارجه . وقد أسس طريقته على أن الفيروس الوارد من خارج الحقل يكون موزعاً دون انتظام، كما سبق أن ذكرنا، ومن هنا استنتج أن هناك احتمالات لفرصة وقوع نباتين متتاليين مصابين «أى زوج» وعبر عن ذلك بالمعادلة التالية :

$$P = X \frac{(X-1)}{N}$$

حيث إن P = عدد الأزواج .

N = عدد النباتات المفحوصة في خط واحد .

X = عدد الأزواج المصابة .

وفى حالة القيم الكبيرة لـ N فإن الخطأ يكون فى \sqrt{P} فإذا وجد أن عدد أزواج النباتات المصابة (ثلاثة نباتات متجاورة تعتبر زوجية) تعتبر أكبر من المتوقع، فإن من الممكن أن تعتبر أن الفيروس ينتشر داخل الحقل من مصدر داخلي فيه؛ أى من نبات مصاب داخل الحقل نفسه . ومع ذلك فليس من الضرورى إذا كان المصدر داخلياً أن تصاب النباتات المتجاورة باستمرار، إلا أنه لا يمكن استبعاد هذا الاحتمال . وفى حالة ما إذا كان الفيروس ينتقل خلال الحقل بواسطة نوعين مختلفين من الناقلات، فإن التعرف على نوع الإصابة التى تحدث فى الحقل يكون غير واضح؛ حيث إن الناقل الأول يمكن أن يصيب النباتات المتجاورة، فى حين أن الثانى يمكن أن يصيب نباتات متفرقة على مسافات بينها وبين بعضها .

وفى حالة الفيروسات التى تحمل على أجزاء قم الحشرة، تلعب الحشرات التى لا تكون مستقرة على النباتات الدور المهم، حيث يمكنها التحرك من نبات لآخر، على الرغم من أنها قد تشكل جزءاً ضعيفاً من مستعمرات اللن؛ أى إن المن المنجح يمثل أفراداً قليلة من

كما أن المن المنجح له القدرة أيضاً على جلب الفيروس من الخارج، بالإضافة الى إمكان نشر الفيروس من نبات داخل الحقل نفسه؛ حيث إنها تتحرك فى حدود ظروف غذائية مناسبة. كما سبق أن ذكرنا فإن طريقة انتشار الفيروس على محصول ما فى حدود حقل ما يتوقف الى حد كبير على طبيعة حياة الناقل، وخصوصاً المن، فعلى سبيل المثال نجد أن بق الصليبيات يختلف فى طبيعة تحركه داخل المحصول عن المن اختلافاً كبيراً، ولذا نجد أن الأولى تكون أكثر نشاطاً فى نقل الفيروس؛ لأنها تتحرك من نبات لآخر فى مسافات قصيرة، ولكنها تفعل ذلك كثيراً أى تأهل عدد كبير من النباتات، أكثر من المن غير المنجح، ومن جانب آخر فإنها لا تصل إلى مسافات بعيدة، كما يفعل المن المنجح.

وكما نرى فإن الجانب الأكبر من العوامل التى ناقشناها يتعلق بالاختلاف فى أعداد النباتات، التى أصيبت بفيروس ما بواسطة حشرات المن. كما أن مدى ظهور الأعراض المرضية من الممكن أن يزيد وضوحها بزيادة الجرعة الفيروسية فى اللقاح المعدى، والذى يمكن أن يتحقق بواسطة تغذية عدد كبير من المن على النبات، كما أن المرض من الممكن أن يظهر أشد وضوحاً إذا ما أصيبت النباتات فى عمر مبكر.

ثانياً : الانتشار خلال التربة :

توجد ثلاث مجموعات من الفيروسات التى تنتقل عن طريق التربة :

١ - فيروسات لم يعرف لها ناقل .

٢ - فيروسات تنتقل بواسطة الفطريات .

٣ - فيروسات تنتقل بواسطة النيماتودا .

ومن المعروف أن فيروس تبرقش أوراق الدخان TMV يعتبر من الفيروسات، التى يمكن أن تنتقل عن طريق التربة بلا مساعدة من أى ناقل؛ حيث إن ثبات هذا الفيروس يسمح له أن يظل نشطاً فى البقايا النباتية من موسم إلى موسم الزراعة التالى، وهناك إذا كانت

الظروف مواتية فإن العدوى تحدث عند زراعة الاصناف القابلة للإصابة فى الاراضى الملوثة، وتم العدوى عن طريق جروح دقيقة تحدث فى جذور النباتات عند زراعتها، أو من جراء العمليات الزراعية المختلفة.

وينتقل فيروس تضخم العروق فى الخس عن طريق التربة، بواسطة فطر *Olpidium*، وهو فيروس مداه العوائل ضيق للغاية، وعلى ذلك يمكنه أن يعيش فترات طويلة فى التربة إذا لم تكن الظروف مواتية؛ حيث يظل فى الجراثيم الساكنة لهذا الفطر. كما أن هذا الفيروس له القدرة على البقاء عدة سنوات فى التربة الجافة، دون أن يصل للنبات المناسب، ومن جانب آخر فإن فيروس TNV الذى ينتقل أيضاً بواسطة فطر *Olpidium* يملك مجالاً عوائلياً واسعاً للغاية، ولكن لكى يبقى لأبد له باستمرار من وجود جذور النباتات الحساسة، وكذلك الناقل حيث يحمل على سطح الجراثيم الزيجية.

ودون شك، فإن أهم مجموعات الفيروسات التى تنتقل عن طريق التربة، هى تلك المجموعة التى تنتقل بواسطة النيماتودا؛ حيث إن إيكولوجيا هذه المجموعة يختلف عن إيكولوجيا بقية المجموعات، وعن تلك التى تنتقل بواسطة المن.

إن النيماتودات تعيش طويلاً ولها مجال عوائلى واسع للغاية، ويمكنها مقاومة الظروف البيئية غير المناسبة لفترات طويلة، وفى غياب العوائل المناسبة؛ فلقد وجد Harrison و Hooper سنة ١٩٦٣ أن نيماتودا *Longidorus elongatus* يمكنها أن تعيش لمدة سنتين فى تربة رطبة فى غياب العائل المناسب عند درجة حرارة الغرفة، ويمكن أن يظل الفيروس فى جسم النيماتودات التى لا تغذى لعدة أسابيع أو شهور.

ولا تملك النيماتودا أشكالاً كامنة، ولكنها لها القدرة على الهجرة إذا كانت ظروف التربة غير مناسبة، فعندما تحف الطبقة السطحية من التربة فى الصيف أو تتجمد فى الشتاء، فإن النيماتودا تهاجر الى الطبقات السفلى، وتعود الى الطبقات السطحية، إذا ما تحسنت الظروف، ويكون انتشار النيماتودا محدوداً أو بطيئاً فى التربة غير المعدة، فقد وجد Harrison & Wilson أن اعداد نيماتودا *X. diversicaudatum* تنتشر فى الاراضى سيئة

الإعداد، وخاصة المشغولة بالغابات بمعدل ٣٠ سم في السنة، بينما تزيد سرعة النيماتودا في الاراضى المجهزة التى تزرع، وكذلك فى الاراضى التى تروى. وقد لوحظ أن طبيعة العدوى التى تحدث عند إصابة محصول ما تتوقف إلى حد كبير على الناقل وحالة الفيروس فى التربة قبل زراعة لهذا المحصول. والرسم التالى يوضح انتشار النيماتودا وفيروس موزيك الارابيس Arabis Mosaic.v على محصول الشليك بالنسبة لنبات *Prunus Spinosa*، الذى يعتبر مصدراً لكل من الفيروس والناقل.

١ - النبات الذى يعتبر مصدراً للإصابة بالفيروس والناقل.

٢ - اشجار العائل *Prunus* الحية.

A = المنطقة التى تنتشر بها النباتات المصابة.

O = الدائرة التى بها رقم تعبر عن اعداد النيماتودا فى ٢٥٠ جرام تربة، موضوعة فى ثلاث قمارى.

ويلاحظ أن المساحة التى تشغلها نباتات الشليك المصابة يتطابق مع المساحة، التى تحتوى على جذور العائل المشترك. وعند زراعة المحاصيل ذات الحولين أو المعمرة فى الحقول المصابة أصلاً بالنيماتودا والحاملة للفيروس، فإن المرض يمكن أن يحدث قبل ظهور الأعراض الأولى بمدة سنة أو سنتين، أى إن الأعراض من الممكن أن تختفى لمدة عام بعد حدوث العدوى.

الانتشار إلى مسافات بعيدة المدى:

إن انتشار الفيروسات إلى مسافات بعيدة فى أغلب الأحوال يحدث بطريقة طبيعية، وقد لوحظ فى الدول الاسكندنافية انتشار وبائى لمرض اصفرار بنجر السكر - Sugar beet Yel-lows، والذى ظهر أنه كان نتيجة لدخول المن المجنح على نطاق واسع فى يوليو سنة ١٩٥٩ القادم من القارة الأوروبية مع الرياح الجنوبية، التى تراوحت سرعتها من ٥ - ١٠ أمتار فى الثانية، وقد حملت هذه الحشرات معها السلالات الشائعة فى القارة من ذلك الفيروس، وسببت إصابة ١٠٠٪ من النباتات فى السويد. ومع ذلك فمازال من الصعب إثبات انتشار المرض بهذه الطريقة؛ حيث إنه من الصعب التحقق من المكان الذى هاجر منه الناقل واقتفاء

آثره، أو تحديد خط سيره، وأصعب من ذلك إثبات أن الحشرات قد نقلت معها فيروساً معيناً بالذات. وقد أثبتت الدراسات أن الفيروسات الدوارة بالحشرة، وكذلك الفيروسات الباقية بالحشرة يمكنها أن تبقى بالحشرة لفترة تكفي؛ لكي يتمكن الناقل من نقل المرض. أما الفيروسات غير الباقية فمسريراً ما تفقد من الناقل. وقد وجد أن الفيروس يظل في الحشرة التي لم تتوقف إطلاقاً أثناء الهجرة حتى مسافة ٦٠ كم (Johansen 1967) وإلى وقت قريب، كان فيروس الاصفرار النيكروزي في الخس Necrotic Yellows of Lettuce كان وجوده فقط في استراليا. إلا أن «كلاوز» وجد في نيوزيلندا مرضاً على الخس يتسبب بما لا يدع مجالاً للشك عن هذا الفيروس أو إحدى سلالاته، وإن كانت هذه المعلومات لم تنتشر. ومن الممكن أن يكون هذا الفيروس قد حمل إلى نيوزيلندا بواسطة حشرات المن الحاملة لهذا الفيروس، التي حملتها الرياح من استراليا التي تبعد حوالي ٢٤٠٠ كم.

وقد أوضح Broadbent سنة ١٩٦٥ أن طائر *Passer domesticus* يصيب تقريباً حوالي $\frac{1}{3}$ النباتات السليمة التي تزرع في خيمة مع نباتات الطماطم السليمة، وكذا المصابة بفيروس TMV، وهنا يثور تساؤل: هل من الممكن نقل فيروسات مثل فيروس TMV إلى مسافات بعيدة بواسطة الطيور، في حين أن العامل الرئيسي في انتشارها في الحقل مازال في حاجة إلى توضيح؟

أما الفيروسات التي تنتقل خلال البذور، فمن الممكن نظرياً أن تنتقل إلى مسافات بعيدة بواسطة الطيور، ومع ذلك لم يثبت حتى الآن ناقل واحد لهذه الحالة. أوضح Procter (١٩٦٨) أن البذور تظل محتفظة بحيويتها في حوصلة الطيور البحرية لمدة ٣٤ ساعة، وهذه المدة تكفي لنقل هذه البذور لعدة آلاف الكيلومترات. كما أن الطيور التي تتغذى في مناطق بعيدة عن البحر، من الممكن أن تقذف بالبذور في مناطق قريبة من السواحل البحرية، ومن ثم يمكن أن تلتقطها الطيور البحرية ثانية. ولذا فإن المؤلف يرى أن مثل هذه البذور يمكن أن تنقل بما تحمله من فيروسات من قارة لأخرى، حيث تبقى الحين توفر الظروف المناسبة، وتنتشر ما بها من فيروسات إذا ما توافرت العوامل الأخرى من بين الغطاء النباتي المحلي. وفي خلال المائة سنة الأخيرة انتشرت فيروسات في جميع أنحاء الكرة

الأرضية، بعد أن كانت محصورة في مساحات جغرافية محدودة، ودون أدنى شك فإن الإنسان هو المسئول الأول عن ذلك؛ حيث انتقلت الفيروسات مع النبات أو الأجزاء الخضرية أو البذور. ومن الممكن في بعض الأحيان بواسطة الناقلات الحشرية، فكثير من فيروسات البطاطس قد انتقلت مع هذا المحصول من أمريكا إلى أوروبا. كما أن فيروس موزايك الخس الذي ينتقل عن طريق البذور يلاحظ حالياً حيثما زرع هذا المحصول، كما أن حقيقة أن فيروس T M V يمكن أن يحتفظ بخصائصه في رماد السجائر، توضح سبب الانتشار الواسع لهذا الفيروس في جميع أنحاء المعمورة، حيثما زرع الدخان وغيره من عوامل هذا الفيروس.

إلا أن انتشار بعض الفيروسات الأخرى يتطلب توفر الظروف المناسبة لكل من الفيروس والناقل الحشري المناسب، وكذلك يتطلب وجود العائل المناسب.

ويعتقد Raski & Hewitt (١٩٦٣) أن انتشار فيروس الورق المروحي في العنب في جميع أنحاء المعمورة «وناقله النيماتودي» يرجع في المقام الأول إلى الإنسان.

وقد نشر Bennet (١٩٦٧) نتائج مجمعة تتعلق بمشاكل الانتشار الجغرافي لفيروس تجمع قمة بنجر السكر Sugar beet curly top v. حيث إن هذا الفيروس كان قد سجل سنة ١٩٠٠ في غرب الولايات المتحدة، وفي هذه المناطق فإنه ينتشر بواسطة نطاط الأوراق *Circulifer tenellus*. وظل لوقت طويل من الزمن يلاحظ هذا المرض في هذه المناطق، حتى ظهر اعتقاد أن هذا الفيروس محلي وينتقل بناقل محلي. ولا يوجد نظير لهذا الناقل في نصف الكرة الغربي، إلا أن بعض الأنواع التي تتبع هذا الجنس، قد لوحظت في حوض البحر الأبيض المتوسط. وفي سنة ١٩٥٨ لوحظ انتشار هذا المرض الواسع في تركيا، مما أدى إلى الاعتقاد أن هذا الفيروس وناقله دخلا أول الأمر إلى بلاد البحر الأبيض المتوسط، ومن هذه البلاد وصل إلى الولايات المتحدة. وهنا يظهر تساؤل بأي الوسائل استطاع هذا الفيروس وناقله عبور هذه المسافة خصوصاً بوسائل المواصلات البدائية، التي كانت معروفة سنة ١٨٩٥.

ويعتقد المؤلف أن وقت انتشار مرض الحمى الصفراء، سافر الناس إلى كاليفورنيا حاملين

معهم أبقارهم، التي كان يعتبر البنجر الغذاء الأساسي لها، ومنه انتقل المرض ونقله الى الولايات المتحدة . وهذا المثال يوضح الصعوبة في تحديد موطن نشوء الفيروس، وخط سير انتشاره، وإحدى هذه الصعوبات ترجع إلى نقص المعلومات عن الفيروسات التي تنتشر في جميع أنحاء الكرة الأرضية، وعلى سبيل المثال فمن الممكن أن يكون مرض تجعد قمة بنجر السكر الفيروسي قد تواجد في تركيا منذ مئات السنين، ولكن لم يعرف بدقة إلا في سنة ١٩٥٨.

وعلى الرغم من الحجر الزراعي الذي تتبعه معظم الدول، فإن دور الإنسان في نقل الفيروسات من بلد لآخر مازال مستمرا حتى الآن، وعلى سبيل المثال فإن فيروس Carrot mosaic virus كان معروفاً منذ وقت طويل في غرب الولايات المتحدة، ثم ظهر سنة ١٩٦٦ في نيوزيلندا في أربع مناطق متجاورة، وبعد عام ١٩٦٦ سجل المرض على جميع الزراعات في منطقة أوكلاند، ونتيجة لنقل النباتات بواسطة التجار انتشر المرض في مناطق أخرى حيث تزرع الخضر. وحيث إن هذا الفيروس لا ينتقل عن طريق البذور، وله مجال عوائل ضيق للغاية ينحصر في نباتات العائلة الخيمية، كما أنه توجد على الأقل ١٠ أنواع من المن، كانت موجودة في نيوزيلندا من قبل.. فإننا يمكن أن نخمن كيف انتشر هذا الفيروس في جميع أنحاء نيوزيلندا؛ حيث إنه لا بد وأن يكون قد نقل مع البقايا النباتية التي غالبا ما كانت تقذف بها المراكب في مضيق أوكلاند، والتي غالبا ما يقذف بها الشاطئ بفعل الأمواج، وماتزال بصورة طازجة إلى حد ما، ومن هنا تغذت عليها الحشرات الناقلة، التي كانت موجودة من قبل في هذه البلاد.

والفيروسات التي تنتقل الى مناطق جديدة، من الممكن أن تجد هناك ظروفاً تسمح بانتشارها الواسع.

ولقد أوضح Stubbs (١٩٦٤) أن فيروس التقزم المخطط في الجزر carrot motely dwarf V. انتشر انتشاراً واسعاً في أستراليا؛ حيث توجد كميات كبيرة من المن *Cavariella aegopodii* الذي يعتبر ناقلاً نشطاً لهذا الفيروس على عكس الحال في كاليفورنيا؛ حيث تكون الظروف غير مناسبة لهذا الناقل، فإن الفيروس ينتشر ببطء. ومن

فيروسات الذبذبات

وجهة نظر انتشار الفيروسات على مستوى العالم، فإن نيوزيلنده تعتبر مثلاً جيداً؛ حيث إنها من الناحية الجغرافية تعتبر منطقة منعزلة، كما أنها تتمتع بتنوع محصولي كبير وزراعة متقدمة، كما أن مستوطني هذه البلاد قاموا بجلب أنواع جديدة من النباتات الغذائية إلى نيوزيلنده مثل البطاطا والقلقاس *Colocasia esculenta*. وفي غضون الـ ١٥٠ سنة الأخيرة، نقل المهاجرون الأوروبيون كميات كبيرة من محاصيل الحقل والبستان، وكذلك عدداً كبيراً من الحشائش. وقد سجل للآن في نيوزيلنده أكثر من ٦٨ فيروساً؛ حيث تصيب المحاصيل التي دخلت حديثاً إلى البلاد (نيوزيلنده)، وأغلب هذه الفيروسات تعتبر مطابقة لفيروسات موجودة في مناطق أخرى من العالم، وعلى وجه الخصوص أوروبا وشمال أمريكا، الأمر الذي يجعل من السهل الاعتقاد أنها دخلت مع الدرنات والابصال وغيرها من الاجزاء النباتية، فعلى سبيل المثال من هذه الـ ٦٨ فيروساً، ١٨ فيروساً تصيب محاصيل الفاكهة التي تتكاثر خضرياً، وقد سجلت أول الفيروسات في نيوزيلندا سنة ١٩٢٩ على البطاطس.

وسائل تنمية ورعاية المحصول :

من العوامل المؤثرة على الأمراض الفيروسية طرق الزراعة والعمليات الزراعية المختلفة في هذا أو ذاك من المحاصيل، في هذه أو تلك من المناطق على مدى الفصول الأربعة، ومن المفروض أن العمليات الزراعية المناسبة تقلل من انتشار المرض، وهنا تتدخل عوامل كثيرة، منها:

موعد الزراعة :

وبدراسة العلاقة بين مدى إصابة المحصول بمرض فيروسى وموعد زراعة المحصول على محصول القمح الشتوى، حيث وجد أن نسبة إصابة القمح بفيروس موزيك القمح المخطط تتوقف إلى حد كبير على موعد زراعته، فإذا ما زرع القمح قبل سبتمبر، فإنه يتم تقصير جزئى لفترات النمو الخضري الشتوى والربيعى والتي تعتبر مصادر للمرض. كما أن درجات الحرارة العالية من الممكن أن تقلل من أعداد المن، التي تعتبر ناقلات للمسببات المرضية الفيروسية، فإذا تأخرت مواعيد الزراعة حتى تنخفض درجة الحرارة، فإن القمح الشتوى من الممكن أن تقل نسبة إصابته.

الدورة الزراعية :

لنوع «الدورة الزراعية تأثير كبير على انتشار الأمراض الفيروسية، وخصوصاً تلك الفيروسات التي لها القدرة على البقاء على الحشائش، أو في بقايا المحصول السابق، وغالباً ما تكون مصابة بالفيروس أو حاملة له، ومن الممكن أن تتكاثر لفترات طويلة. ولقد أوضح Gregory وDancaster أنه للتخلص من نباتات البطاطس المصابة بالفيروس الملوث للحقول، يتطلب الأمر ٥ - ٦ سنوات، وفي حالة المحاصيل المعمرة فإن كمية أو أعداد النباتات المصابة تزيد بزيادة عمر المزرعة أو البستان.

تجهيز التربة :

إن طرق معاملة وتجهيز التربة لها تأثير ملموس على انتشار وبقاء الفيروسات في التربة أو في البقايا النباتية الموجودة بها. كما أن النيماتودات والفطريات تعتبر ناقلات لفيروسات التربة، إذا ما أصبحت التربة مناسبة لها عند التجهيز؛ فمن العوامل التي تؤثر على بقاء البقايا النباتية الحاملة لفيروس TMV هي مستوى التهوية في التربة، وكذلك درجة الرطوبة بها. فلو كان المحصول السابق هو البطاطس.. فإن تجهيز التربة أثناء التربة الباردة ينقص بدرجة ملحوظة من عدد الدرنات المتبقية بالتربة.

مساحة الحقل :

يتوقف تأثير مساحة الحقل على انتشار الفيروسات إلى حد كبير على مصدر العدوى الأولى، وعلى كثافة الزراعة، فإذا وجد هذا المصدر على حدود الحقل المشغول بمحصول ما، فإنه كما يشير «فان دير بلانك» سوف تؤثر كثافة النباتات في مساحة معينة؛ أي الزراعة الكثيفة على الحد من انتشار الإصابة الواردة من خارج الحقل، وقد تأكد هذا في حالة البرسيم وإصابته بفيروس موزايك البرسيم.

كثافة الزراعة وحجم النباتات :

إن الناقلات الحشرية المنحثة التي تنقل الفيروس من خارج حقل تصيب عدداً أكبر من النباتات، إذا ما زرعت النباتات متباعدة عن بعضها، وتقل نسبة الإصابة في حالة الزراعة

المتقاربة أو الكثيفة . وقد لوحظ زيادة الإصابة بفيروسات اصفرار بنجر السكر وموزايك بنجر السكر، وحتى فيروس موزايك الكرنب، إذا كانت المسافة بين النباتات وبعضها أو بين الخطوط وبعضها كبيرة، كما لوحظت قلة نسبة الإصابة بهذه الأمراض حينما كانت المسافة قليلة .

كما أنه يمكن القول أن النباتات الطويلة النامية في حقل مشغول بهذا أو ذاك من المحاصيل تكون فرصتها في تلقي الإصابة أو العدوى أكبر من النباتات القصيرة؛ خصوصاً تلك الفيروسات التي تنتقل بواسطة حشرات المن؛ حيث إن فرصة زيارة الحشرات لهذه النباتات الطويلة أكبر، وقد لاحظ Broadbent ذلك في حقول الكرنب على مدى موسم واحد، بالنسبة للإصابة بفيروس موزايك الكرنب، فقد كانت نسبة الإصابة بين النباتات الطويلة ٣٠٪، بينما كانت ١٥٪ من بين النباتات متوسطة الطول، أما ٥٪ من النباتات القصيرة كانت مصابة .

ثانياً : العوامل الطبيعية :

الموسمية والظروف الجوية :

للعوامل الجوية تأثير كبير على مدى إصابة المحاصيل الحولية بالفيروسات، فقد أوضح Watson & Hoathcot أنه من العوامل المهمة لانتشار المرض، الهجرة المبكرة للمن، ومع ذلك فهناك عوامل أخرى لا تقل أهمية، فعلى سبيل المثال في يونيو سنة ١٩٤٥ سجلت أعداد قليلة من المن *M. persicae* . وفي هذا العام لوحظت إصابة وبائية بالأمراض الفيروسية المهمة، بينما في يونيو سنة ١٩٤٦ سجلت أكبر كمية من المن المذكور خلال ثمانية سنوات، أجريت خلالها الدراسة، وعلى الرغم من ذلك كانت الإصابة الفيروسية قليلة النسبة . ومن هنا يمكن القول بكل تأكيد أنه على مدى ثمانى سنوات، كان العامل المهم في تحديد شدة الإصابة الفيروسية هو درجة إصابة المحصول في المزارع المجاورة .

فعلى أساس النتائج المتحصل عليها عند استخدام مصدر مشابه للعدوى، يمكن الاعتقاد أن التفاوت الموسمي في نسبة الإصابة في محصول ما مثل بنجر السكر، فمن

المحتمل أن تكون نتيجة التأثير المستمر للظروف الجوية على أعداد المن الناقل على مدى الوقت الأطول من موسم النمو؛ حيث إن هذه الظروف تؤثر على مواعيد تكاثر وأعداد المن المهاجر إلى المزرعة، وعلى نمو المستعمرات داخل المحصول، وعلى سرعة تحركه.

ومن الممكن أن تؤدي الظروف الجوية غير العادية إلى انفجار وبائي للمرض، عما هو معروف عنه في منطقة معينة بالنسبة لمحصول معين كل عام، ومن أوضح الأمثلة على ذلك ما حدث سنة ١٩٦٣ بالنسبة للقمح الشتوي في جنوب البرتا حيث يزرع عادة القمح الشتوي في الأسابيع الأولى من سبتمبر، وهذا يؤدي إلى هروب المحصول من الإصابة بفيروس موزايك القمح، والذي يعتبر القمح الربيعي هو المصدر الرئيسي له، ولكن في سنة ١٩٦٣ كانت الظروف الجوية غير عادية؛ حيث كانت كمية الأمطار في الربيع قليلة بشكل ملحوظ عن المعدل الطبيعي لها، فخرج القمح الربيعي قليل الكثافة؛ لعدم إنبات كثير من البذور، وفجأة تغير هذا الموقف حيث هطلت الأمطار في المناطق التي تعرضت للجفاف من قبل بدأت تنبت الحبوب التي لم تنبت من قبل «أي بعد شهر تأخير»، كما أن النباتات التي كانت قد توقفت عن النمو بسبب الجفاف بدأت تنمو وتتفرع. وفي يونيو ويوليو كان معدل الأمطار فوق المعدل الطبيعي مما دفع النباتات للنمو السريع، كما أدى عدم التمكن من إجراء العمليات الزراعية كالحرث والخدمة إلى زيادة البقايا النباتية والحشائش. وفي المناطق التي تعرضت للجفاف في أول الموسم، لم يتمكن من الوصول إلى مرحلة النضج قبل نهاية سبتمبر، وأصبحت تشكل مصدراً خطيراً للعدوى، التي تنتقل منها إلى القمح الشتوي؛ ولذا فإن مزارع القمح الشتوي والتي تزرع عادة في أول سبتمبر، تعرضت بشدة في أول حياتها للإصابة الفيروسية، وفي الخريف أيضاً كانت الطبيعة على غير المعتاد، مما ساعد على انتشار الناقل والفيروس؛ فقد كانت درجة الحرارة في سبتمبر ٣٥،٥°م أي بزيادة ٥،٥°م من معدلها في مدى ثلاثين عاماً، كما ظلت درجة الحرارة المرتفعة نسبياً سائدة أيضاً في شهر أكتوبر.

أما موسم ١٩٦٤، فلم يكن مناسباً لانتشار الفيروس، ولكن نظراً لانتشاره الواسع في الحقول المنزوعة بالقمح الشتوي من قبل حلول الجليد في عام ١٩٦٣، فقد ماتت مساحات

فيروسات الذبذبات

كبيرة مزروعة بالحبوب ، كما تؤثر بعض العوامل الطبيعية على سرعة تكاثر وانتشار الناقلات للفيروسات وتحركها . ومن هذه العوامل : درجة حرارة الهواء والرطوبة والرياح . فلقد وجد أن درجات الحرارة المرتفعة تودى إلى تقليل أعداد المن وإعاقة تكاثره . كما أن الرياح تعتبر من العوامل المهمة ، التي لا تؤثر فقط على انتشار الناقل والفيروس الذى ينقله فحسب ، بل وتؤثر كذلك على اتجاه هذا الانتشار ؛ فالرياح الشديدة من الممكن أن تودى إلى تقليل أعداد الحشرات الناقلة فى منطقة معينة ، وبالتالي تقليل نسبة النباتات المصابة فى هذه المنطقة ، فعلى سبيل المثال فإن ناقلات فيروس تشوه براعم الكاكاو عادة غير نشطة ، وتنقل الفيروس على مسافات قصيرة ، ومع ذلك فمن الممكن أن تنقل إلى مسافات بعيدة بواسطة الرياح ، ومن ناحية أخرى . . فإن المن المنحثة فى العادة لا يطير عندما تهب الرياح الشديدة ، ولكن اتجاه طيرانها غالباً ما يتغير تبعاً لاتجاه الرياح .

كما أن الرياح الشديدة غالباً ما تنقل المن إلى مسافات بعيدة . وكذا يتحدد اتجاه نطاطات الاوراق باتجاه الرياح ، فمن المعروف أن نطاط الاوراق *C. tenellus* لا يمكن أن يطير عكس الرياح التى تبلغ سرعتها ٣٠ كم / ساعة .

التربة :

إن ظروف التربة هى الاخرى تؤثر بوسيلة أو بأخرى على مدى وسرعة انتشار الامراض الفيروسية ؛ حيث إن فرص انتشار الامراض الفيروسية تكون كبيرة فى حالة التربة الخصبة .

كما وجد أن إضافة الاسمدة العضوية وغير العضوية أدى إلى زيادة إصابة البطاطس بفيروس التفاف الاوراق ، وكذا بفيروس *TMV* حيث إن هذه الظروف تكون مناسبة لسرعة تكاثر المن الناقل لهذا الفيروس على هذه النباتات ، كما تؤثر تغذية النبات أيضا على درجة الإصابة وشدة ظهور الاعراض ، فقد تجعلها غير واضحة أو تزيد من درجة وضوحها .

كما أن ظروف التربة يكون لها تأثير كبير أو تلعب دوراً كبيراً فى بقاء فيروس *TMV* فى البقايا النباتية بالتربة ، كما سبق أن ذكرنا ؛ حيث يفقد الفيروس نشاطه وقدرته على العدوى

فى التربة الرطبة، وكذا فى الاراضى جيدة التهوية أسرع من الاراضى الجافة وغير المسامية أو المبطلة.

كما أن درجة الحرارة فى التربة من الممكن أن تؤثر على نقل الفيروس بواسطة النيماتودا. فقد وجد Dehort سنة ١٩٦٤ أن فيروس التبغ الحلقى فى الشليك انتقل بواسطة نيماتودا *Longidorus macrosona* عند درجة ٢٠م إلى ١٦ نباتاً من ٢٠ نباتاً بينما عند درجة حرارة ٣٠م لم يتم النقل، ومع ذلك لم يكن إلا إخفاق فى نقل الفيروس عند درجات الحرارة العالية راجعاً الى موت النيماتودا، حيث كانت أعدادها ثابتة تقريباً، عند درجات الحرارة التى أجريت عليها التجربة، ولكن يعتقد أن درجات الحرارة العالية ذات تأثير سيئ على تغذية النيماتودا.

بقاء الفيروس على مدى دورة سنوية:

من الممكن أن يتحقق بقاء الفيروس فى خلال فصل الشتاء بعوامل مختلفة، تختلف باختلاف الفيروسات، حيث توجد فيروسات لها القدرة على البقاء بمساعدة عدة طرق مختلفة، نذكر منها :

١ - كثير من الفيروسات يمكنها أن تنتقل من موسم لآخر، مستخدمة هذا أو ذاك من العوامل النباتية أو فى التقاوى، سواء كانت بذوراً حقيقية أم أجزاء خضرية تكاثرية. وهنا أيضاً يمكن أن نذكر الفيروسات التى تتجنب الظروف غير المناسبة فى بعض أوقات السنة بإصابتها النباتات المعمرة أو محمولة فى الدرنات وغيرها، كما يمكن أن تستخدم النباتات التى تبقى فى الحقل خلال فصل الشتاء مثل البنجر «بنجر المائدة»، وهذا الكلام ينطبق على البلاد التى يكون الشتاء فيها ثلجياً، ولا توجد مثل هذه الحالة فى جمهورية مصر العربية؛ حيث توجد لدينا مزارع شتوية وأخرى صيفية.

٢ - كما سبق أن ذكرنا فإن الفيروسات التى يمكنها أن تصيب مدى عوائلها واسعاً يمكنها البقاء فى الطبيعة؛ إذا وجدت فى عوائلها نباتات معمرة أو حولية، لاتزرع فى وقت

واحد؛ أى تزرع فى أوقات مختلفة من العام، وكذلك النباتات التى يصل الفيروس إلى أجنة بذورها.

٣ - الفيروسات التى تنتقل عن طريق الجاسيد *Gacids* حيث يمكنها أن تعبر موسماً إلى موسم آخر، عن طريق البيض الذى تضعه هذه الحشرات.

٤ - الفيروسات التى يمكنها أن تقضى الموسم ذا الظروف غير المناسبة فى البقاية النباتية فى التربة مثل فيروس *TMV*، وكذلك على الحشائش، وفى عوائل أخرى كما سبق أن ذكرنا.

٥ - من الممكن أن تقضى الفيروسات التى تنتقل عن طريق الفطريات فترات طويلة فى الجراثيم الساكنة لهذه الفطريات إلى أن تتحسن الظروف، ويزرع العائل المناسب مثل فيروس تضخم عروق الخس.

٦ - قد تؤدي العمليات الزراعية والدورة الزراعية فى بعض المناطق إلى بقاء الفيروس على مدار العام متنقلاً من محصول إلى محصول، والتى تتوالى خلال الدورة، وهذا يتم فى المناطق التى تسمح فيها الظروف المناخية بتوالى المحاصيل، أو فى المناطق التى تنمو فيها المحاصيل البرية جنباً إلى جنب مع المحاصيل الاقتصادية، أو فى تلك المناطق التى تتوالى فيها زراعة القمح الربيعى والقمح الشتوى؛ حيث يوجد فيروس موزايك القمح، طالما وجد النبات الحى.

الباب العاشر

مقاومة فيروسات النبات

Control of Plant Viruses

مقاومة فيروسات النبات

CONTROL OF PLANT VIRUSES

إن الوسيلة الأساسية لوقاية النباتات من الأمراض الفطرية هي المعاملة بالمطهرات الفطرية؛ حيث تستخدم المطهرات الفطرية إما لوقاية النباتات من الإصابة أو لعلاج المرض أو الحد منه . أما بالنسبة للأمراض الفيروسية فلا تعرف مثل هذه الطرق المباشرة، بل إن الطرق الأساسية في الحد من انتشار الأمراض الفيروسية تأخذ الطابع غير المباشر، حيث تجرى هذه الطرق بغرض تقليل مصادر العدوى داخل أو خارج الحقل، أو الحد من انتشار الناقلات الفيروسية، أو تقليل تأثير الفيروس على النبات إلى أدنى حد ممكن . ومع ذلك فيمكن القول أن استخدام هذه أو تلك من الوسائل في مكان ما لا يحل المشكلة، حيث إن مقاومة الأمراض الفيروسية إجراء غير واثق، ويتطلب توحيد واستمرار الجهود من سنة لآخرى، ولا يشذ عن ذلك إلا في حالة وجود صنف ما من المحاصيل مقاوم أو منيع لهذا أو ذلك من الفيروسات، ولكن ذلك لا ينطبق في أغلب الأحوال على كل الفيروسات؛ حيث إن الصنف قد يكون منيعاً لفيروس ما، بينما يكون قابلاً للإصابة أو حساساً لفيروس آخر أو فيروسات أخرى، أو حتى لسلالات جديدة من الفيروس نفسه، الذي أظهر نوعاً من المقاومة أو المناعة بالنسبة له .

وسنحاول أن نناقش الطرق المختلفة التي تستخدم في مقاومة الأمراض الفيروسية التي تصيب النباتات، وهنا يجب أن نذكر أن الإصابة بالفيروسات تزيد من حساسية النبات لأي مرض آخر؛ حيث إنه من المعروف أن إصابة بتجر السكر بفيروس الاصفرار تزيد من حساسية أو قابلية النبات للإصابة بفطر *Alternaria* ، إلا أن هذا التأثير الثانوي للفيروسات يمكن في بعض السنوات التغلب عليه باستخدام المطهرات الفطرية المناسبة .

ولكى تصبح طرق المقاومة مفيدة أو ناجحة، يجب في بداية الأمر أن يعرف بدقة الفيروس أو الفيروسات المسببة عن المرض أو الأمراض التي تصيب محصولاً ما . وكما هو

معروف فإن الاعراض المرضية لا يمكن ان تستخدم وحدها فى تعريف المسبب الفيروسى .

فعلى سبيل المثال فإن الخس يصاب بأكثر من ١٤ فيروساً مختلفاً، تنتشر بواسطة المن ونطاطات الأوراق والتريس والنيماطودا أو الفطريات . وعدد كبير من هذه الفيروسات يسبب مرض التبرقش البيرونى (كما تتكون على أوراق النباتات نقط نكروزية)، ثم يصفر معظم النبات ويتوقف نموه . وهناك مثال آخر وهو إصابة محصول بنجر السكر بالاصفرار فى الأقاليم الغربية للولايات المتحدة الأمريكية؛ حيث ظل معتبراً على أنه فيروس الاصفرار العادى إلى أن تمكن Duffus سنة ١٩٦٠ من عزل فيروس الاصفرار الغربى، والذي يسبب تقريباً الأعراض نفسها التى يسببها الفيروس العادى .

أولاً: التخلص من مصادر العدوى:

من الواضح أنه إذا كانت التقاوى سواء كانت بذوراً أو أجزاء خضرية خالية أساساً من الإصابة الفيروسية، وكانت التربة خالية من مصادر الإصابة، وكذا لا توجد الناقلات فإنه لن تكون هناك حاجة أصلاً لمقاومة الأمراض الفيروسية . ولكى نتبع طريقاً معيناً للتخلص من مصادر العدوى فى حقل ما، يجب أن نعلم أولاً طبيعة هذا المصدر والوسيلة التى ينتقل بها الفيروس منه الى النباتات السليمة :

أولاً : النباتات الحية كمصادر للإصابة بالفيروسات:

١ - الحشائش المعمرة والحولية التى ينتقل الفيروس عن طريق بذورها، أو تلك التى تكون منها عدة أجيال متعاقبة خلال العام .

٢ - نباتات الزينة المعمرة التى يظهر عليها المرض بصورة ضعيفة .

٣ - المحاصيل غير الشقيقة .

٤ - نباتات من النوع نفسه باقية من العام السابق .

٥ - النباتات ذوات الحولين فى العام الثانى، حيث تنمو مبكراً لتكون البذور وتنتقل منها الفيروسات الى النباتات المزروعة من المحصول نفسه، ولكن فى عامها الأول كما هو فى بنجر السكر وغيرها من محاصيل الخضر .

ويظهر لأول وهلة أن عدداً من هذه المصادر يمكن التخلص منه بسهولة، ولكن من الناحية العملية صعب التنفيذ، وغالباً ما يكون مستحيلاً في المساحات المنزرعة، حتى ولو كانت مزارع صغيرة . ومثال ذلك أنه من الصعب التخلص من جميع درنات البطاطس المتبقية من المحصول السابق . وفي المناطق المعتدلة وتحت الاستوائية ينمو عدد كبير من النباتات التي تعتبر مخازن لعدد من الفيروسات؛ ولذلك فإن تنفيذ مثل هذا الإجراء في مثل هذه المزارع أمر صعب، بل يكاد يكون متعذراً .

وتتوقف فعالية هذا الإجراء؛ أي التخلص من مصادر الإصابة بالفيروس في منطقة ما بالدرجة الأولى على المجال العوائل لهذا الفيروس : فإذا كان هذا المدى العوائل ضيقاً يكون من المناسب إجراء ذلك، أما إذا كان مدى النباتات الحساسة للإصابة بهذا الفيروس واسعاً مثل فيروس تبرقش الخيار (CMV) أو فيروس التبرقش البرونزي في الطماطم يكون مثل هذا الإجراء في أغلب الأحوال قليل الجدوى .

١ - البقايا النباتية :

إن البقايا النباتية في التربة سواء في الحقول أو الصوب الزجاجية تعتبر مصادر تختزن الفيروسات، خصوصاً تلك التي تنتقل ميكانيكياً؛ حيث تنتقل منها الفيروسات إلى المحاصيل التالية لها .

وإذا كانت مثل هذه الفيروسات من الفيروسات شديدة الثبات مثل فيروس TMV .. فإن الوسائل الوقائية مهمة جداً، خصوصاً إذا كانت محاصيل حساسة لهذا الفيروس تزرع عاماً بعد عام في المكان نفسه .

٢ - تقليل النباتات المصابة :

في بعض الأحيان يكون تقليل النباتات المصابة مجدياً وميسوراً، ولكن مثل هذه الوسيلة تكون عديمة الجدوى ولا معنى لها إذا كان الفيروس يغزو المحصول بسرعة من أي مصدر آخر خارجي . ويجب أن يتم تقليل النباتات المصابة في بداية الموسم، وذلك في حالة النباتات المعمرة، فإنه إذا كان انتشار الفيروس بطيئاً فإنه يكون من المفيد اقتلاع النباتات المصابة وإحلال أخرى سليمة محلها، ويتم ذلك على سبيل المثال في حالة إصابة الخوخ بفيروس

الموزايك . وبواسطة المعادلة التى سبق أن وضعها فان ديوريلاتك والتى سبقت الإشارة إليها، يمكن التعرف عما إذا كانت العدوى ذات مصدر داخلى أو خارجى .

٣ - استخدام بذور خالية من الفيروس :

فى حالة ما إذا كانت الفيروسات تنتقل عن طريق البذور الحقيقية .. فإن البذور تكون أحد المصادر المهمة لنشر هذا الفيروس ؛ حيث إن انتقال الفيروس يتم ميكراً بين البادرات عند الإنبات .

أما إذا كانت البذور هى المصدر الأساسى أو الوحيد لنشر العدوى، وإذا كان من الممكن زراعة النباتات فى ظروف معزولة لحد ما عن المصادر الخارجية .. فيكون استخدام البذور الخالية من الفيروس أو حتى التى تحتوى نسبة ضئيلة من الإصابة، إحدى الوسائل الفعالة فى مقاومة الفيروس أو أهم هذه الوسائل على الإطلاق .

وقد يكون فيروس تبرقش الخس من أحسن الأمثلة على ذلك، فلقد وجد Grogan et al سنة ١٩٥٢ فى ولاية كاليفورنيا بالولايات المتحدة الأمريكية أنه عند زراعة خس اللاكتوجا من بذور خالية من الفيروس، كانت نسبة النباتات المصابة عند النضج أقل بكثير من المساحات المجاورة والمزروعة ببذور تجارية . ولم تعط هذه الطريقة إصابات كبيرة لوقت طويل؛ حيث لم يكن واضحاً أنه حتى فى حالة الإصابة الخفيفة فى البذور، فمن الممكن أن تكون إصابة الحقل شديدة، ويكفى لذلك أن يتوافر ناقل نشط . ولذلك فلقد أوضحت التجارب التى أجريت فى كاليفورنيا أن نسبة الإصابة فى البذور لا يجب أن تتعدى ٠,١ ٪ وفى الجدول التالى توضح نتائج ثمان تجارب .

نسبة الإصابة فى البذور .٪ نسبة الإصابة الحقلية فى مرحلة النضج .٪

٣,٤	صفر
٧,٦	٠,١
٢٠,١	٠,٤
٢٩,٥	١,٦

فيروسات الذبذبات

وقد عالج Tomlinson سنة ١٩٦٣ هذا الموضوع فى إنجلترا، وأجرى مثل هذه التجارب وتوصل إلى نتائج مشابهة. ولكى نحصل على التأثير المناسب من مثل هذه الوسيلة فى المقاومة؛ أى استخدام بذور خالية أو ضعيفة الإصابة بالفيروسات، يجب إدخال نظم التقييم والشهادات الصادقة عن أن هذه البذور جمعت من نباتات، زرعت فى مناطق تتوافر بها ظروف العزل المناسب. ولقد أوضحت البحوث الحديثة أنه حتى زراعة بذور الخس التى تحوى نسبة ٠.١٪ إصابة بفيروس الموزايك.. فإن ذلك لا يحمى المحصول من إصابة ثقيلة. والآن فى ولاية كاليفورنيا فى وادى سالىناس، تستخدم تلك البذور الخالية تماماً حيث عند فحص ٣٠٠٠٠ بذرة لم توجد بذرة واحدة مصابة بهذا الفيروس.

٤ - استخدام أجزاء خضرية خالية من الفيروس:

إن المصدر الرئيسى لأغلب النباتات التى تتكاثر خضرياً هو العدوى السابقة لمثل هذه النباتات، ولذا تعتبر طريقة زراعة أجزاء خضرية خالية من الإصابة هى أهم وسيلة لمقاومة فيروسات مثل هذه النباتات.

ولتحقيق ذلك يجب أن تحمل مشكلتان:

أولاهما:

يجب أن نتوصل إلى صنف معين خالٍ من الفيروس، وإذا كان الصنف مصاباً بالكامل فيجب أن نجرب التجارب لتخليصه من هذه الفيروسات.

وثانيتهما:

إذا ما توصلنا إلى الصنف الخالى من الإصابة، فيجب الحفاظ ولو على جزء منه، خالٍ تماماً من الإصابة وزراعة الجزء الباقى فى ظروف لا تسمح إلا بالحد الأدنى للسماح به للإصابة. ويسمى ذلك بالنويات الخالية، والتى تتكاثر حتى يمكن زراعتها فى المساحات الواسعة على النطاق التجارى.

طرق تعرف التقاوى الخالية من الفيروس:

كما سبق أن ذكرنا فإن الطرق البصرية التى تعتمد على المظاهر المرضية الظاهرية فى

التعرف على الإصابة الفيروسية لا يمكن الاعتماد عليها بمفردها فى انتخاب النباتات السليمة، ولذا يجب اللجوء هنا الى طرق التشخيص الموثوق بها، فى التعرف على النباتات المصابة والسليمة. ومثل هذه الطرق موجودة، إلا أن لكل طريقة مجالاً للاستخدام، وهذا يتوقف على كل من الفيروس والعائل. فتعريف أغلب الفيروسات خصوصاً تلك التى تصيب الأشجار المعمرة يعتبر من الأعمال الصعبة، وفى هذه الحالة يعتبر التطعيم على أحد أو عدد من النباتات الحساسة هو الطريقة الأساسية. وحيث إن انتشار الإصابة خلال الشجرة خصوصاً فى المراحل الأولى للإصابة لا يكون متساوياً، وحتى يمكن التأكد من أن الجزء المنتخب منها خالياً من الإصابة، فيجب إعادة الاختبار لعدد آخر من السنين، حتى يمكن التأكد من عدم وجود الفيروس. ولذلك فإن Hampton سنة ١٩٦٦ قام باختبار أربعة براعم من الشجرة الأم على كل نبات اختبار، ووجد أنه فى خلال السنة الأولى من إصابة أشجار الخوخ لا يمكن كشف الإصابة باستمرار على أشجار الكرز، بينما يرتفع احتمال كشف الإصابة بعد مرور ثلاث سنوات. كما أن التوزيع غير المتساوى للإصابة الفيروسية يوجد أيضاً خلال النباتات العشبية. وقد وجد Beemster فى هولندا أن إصابة نباتات البطاطس بفيروس Y لا تستدعى بالضرورة أن تكون جميع الدرنات مصابة بهذا الفيروس، كما أنه وجد أنه ليست كل العيون على الدرنه تحوى الفيروس، ووجد أن الجزء السفلى من الدرنه يكون أقل إصابة من القمة، ولذلك فإن القمة تكون هى الجزء المناسب لإجراء الاختبار.

ولتعريف عدد كبير من الفيروسات، يمكن استخدام طريقة العدوى الصناعية على نباتات الاختبار، كما تستخدم أيضاً طرق التشخيص السيروولوجية، كما تستخدم طرق التشخيص السيولوجية والكيمائية والميكروسكوب الإلكترونية، ومع ذلك فما زالت طريقة الاختبار بالعدوى هى الطريقة المثلى فى انتخاب النباتات السليمة.

طرق إنتاج النباتات الخالية من الفيروس:

الحصول على النباتات الخالية من الفيروس فى الظروف الطبيعية:

أحياناً فى مساحة ما من الممكن أن يلاحظ نباتات فردية من الصنف نفسه غير مصابة بفيروس ما. وإذا لم يكن من الممكن العثور على مثل هذه النباتات فإنه أحياناً ما يكون

مفيداً استخدام تلك الطرق التي سبق الإشارة إليها، مع اعتبار أن الفيروس لا يتوزع بانتظام داخل النباتات، وخصوصاً إذا ما كان التعامل يجري مع أشجار الفاكهة المعمرة. وفي هذه الحالة تؤخذ البراعم غير المصابة من الشجرة. وإذا كان الفيروس يصيب النبات إصابة جهازية؛ فإنه لا يتمكن من الوصول إلى القمة المرستيمية للفرع سريعة النمو، ومن جراء ذلك فإن Holmes سنة ١٩٦٠ تمكن من الحصول على نبات *Dahlia* داليا خالٍ من فيروس التبرقش البيروني في الطماطم. إلا أن النباتات التي تتكاثر خضرياً تكون مصابة فعلياً ١٠٠٪ بهذا الفيروس أو ذاك، وفي هذه الحالة للحصول على مصدر خالٍ من الفيروس لاستخدامه كتنافى، يجب استخدام إحدى الوسائل التالية:

أ - العلاج الحراري: Theromotherapy

يعتبر العلاج الحراري أكثر الوسائل استعمالاً في تخليص الأجزاء النباتية من الإصابة الفيروسية. وقد أحصى Hollings سنة ١٩٦٥ أكثر من ٩٠ فيروساً، أمكن تخليص الأجزاء النباتية منها بواسطة العلاج الحراري على الأقل في نوع واحد من العوائل.

ويمكن تعريض نوعين من الأجزاء النباتية للمعاملة الحرارية:

أولهما: الأجزاء النباتية الكامنة (الدرنات - البراعم في الأشجار - عقل قصب السكر)؛ حيث يمكنها أن تتحمل درجات الحرارة المرتفعة نسبياً بصورة أكثر من الأجزاء النشطة. ويكون تأثير المعاملة هنا مرتبطاً بالتأثير المباشر للحرارة على الفيروس. وتختلف درجة الحرارة وفترة التعريض لها اختلافات كبيرة من ٣٥ - ٥٤ م، ومن عدة دقائق إلى عدة ساعات. وغالباً ما يستخدم الماء الساخن؛ حيث إنه في حالة فترة التعريض القصيلة، فإن الهواء الساخن لا يسمح بتعرض جميع الأجزاء بدرجات متساوية. وإذا لم تكن جميع الأنسجة سخنت بدرجة متساوية.. فإن المعاملة بالهواء الساخن الجاف تكون قليلة الفائدة عن الماء الساخن.

وثانيهما: فغالباً ما تستخدم المعاملة الحرارية في علاج الأنسجة النشطة النامية، وفي هذه الحالة يستخدم الهواء الساخن، ولا يستخدم الماء الساخن، وهنا فإن مدة التعريض تستمر لعدة أسابيع على درجة حرارة ٣٥ - ٤٠ م، وهذه المعاملة تحقق أقل نسبة موت بين النباتات المعاملة، كما أن درجة الحرارة ومدة التعريض تختلف في حدود واسعة باختلاف الفيروسات.

فيروسات الثبات

وغالبا ما يفصل بعد المعاملة الحرارية مباشرة لقمم النامية للبراعم؛ حيث إنها تكون خالية من الفيروس، بينما تظل بقية البراعم محتوية على الفيروس.

إلا أن العلاج الحرارى يكون عديم الجدوى، إذا ما كان الفيروس شديد الثبات وأكثر تحملا لدرجات الحرارة العالية، مثل فيروس TMV. وهنا يجب ألا نسبق الأحداث لنخرج بإجابة محددة عما إذا كان من الممكن تخليص هذا أو ذلك من النباتات من فيروس مثل هذا الفيروس أم لا؟ حيث إنه ليس واضحا في الوقت الحاضر الميكانيكية، التي يتم بها تخليص الأنسجة من الفيروس، فمن الممكن أن تهدم الفيروس نفسه أو الإخلال بعملية تضاعف الفيروسات.

وفي حالة الفيروسات الثابتة مثل فيروس X البطاطس... فإنه من الممكن تخليص بعض أجزاء النبات من الإصابة إذا ما خزنت لعدة شهور عند درجة حرارة منخفضة نسبيا (٣٥°م)، ويرى Mellor وآخرون سنة ١٩٦٧ أنه من الممكن إجراء ذلك خلال الحريف أو الشتاء؛ حتى يمكن الانتهاء منها قبل بداية موسم الزراعة؛ وأمكن التخلص من فيروسين هما S & X دفعة واحدة، عندما خزنت البطاطس عند درجة حرارة ٣٣ - ٣٧°م لمدة عدة شهور، بعد نزع البراعم الإبطية بطول ٣ - ١٠ مم من النباتات وزراعتها على بيئات صناعية.

زراعة الأنسجة المرستيمية:

توجد بعض الأعمال التي تشير إلى أن بعض الفيروسات من الممكن أن تنفذ إلى المرستيمات الأولية. وقد وجد Smith , Mcwhorter سنة ١٩٥٧ أن الانقسام الميتوزي في المرستيمات القمية لجذر وساق نباتات الفول يبطؤ أو يصيبه الشلل؛ نتيجة للإصابة بفيروس النقط الحلقية في الطماطم؛ حيث ظهرت الفجوات في تلك الخلايا ثم ماتت.

كما ظهرت ملحقات شبيهة بالفيروسات في المرستيمات القمية والبروكامبيوم في الساق، أما في المرستيمات القمية في الجذور، فقد ظهرت هذه الملحقات على بعد ٢٠ خلية من القمة.

وعند عدوى القمة النامية لجذر الفول بسلالة فيروس تبرقش الخيار التي تصيب الطماطم

فيروسات الذبذبات

مسببة النقط الحلقية، نفذ الفيروس إلى جميع خلايا الميرستيم القمي. وقد أظهرت الدراسات السيتولوجية موت القمة النامية للجذر، وبعد ذلك ماتت أيضا الخلايا البالغة. ويفحص خلايا الميرستيمات القمية بواسطة الميكروسكوب الإلكتروني ظهر بها الفيروس، وهذا كان قد ثبت بالنسبة لبعض الفيروسات في عوائل مختلفة.

إلا أنه في كثير من التغييرات في الشنائي «فيروس + عائل» ثبت أنه توجد بالقرب من القمة النامية للجذر والساق منطقة ذات حجم كبير أو صغير، خالية تماماً من الجزئيات الفيروسية، أو تحتوى على عدد ضئيل جداً من هذه الجزئيات. وهذا ما دعا بعض الباحثين للحصول على عدد من الخلايا الخالية من الفيروس وزراعتها.

ومع ذلك فمن الصعب إثبات أو التأكد من غياب الفيروس في الخلايا الميرستيمية القمية؛ ولذلك فمن الضروري أن تعطى هذه الأنسجة المعزولة الفرصة للنمو بعض الوقت، حتى إذا ما كان بها حتى ولو تكاثرت كمية ضئيلة من الفيروس، وأمكن الكشف عنها بسهولة، ومن ناحية أخرى فإن بعض الفيروسات تفقد بزراعة الأنسجة على البيئات الصناعية.

ومن المعروف أن مادة الكينتين تؤدي إلى وقف تضاعف الفيروسات، ولذا يلجأ بعض الباحثين إلى إضافة هذه المادة أو ما يشابهها في البيئة المستخدمة لزراعة الأنسجة الخالية من الفيروسات. ولا توجد مواد شبيهة لتلك التي تؤثر تأثيراً ملحوظاً على أعداد الجسيمات الفيروسية الموجودة في المرستيمات القمية.

ومن بين الفيروسات التي لا تنفذ إلى القمة النامية للساق، فيروس موزايك الداليا في الداليا، وعدد من فيروسات البطاطس مثل فيروس A وفيروس Y وفيروس S وفيروس X، وتبلغ المسافة الخالية من مثل هذه الفيروسات حوالي ١٠٠-٢٠٠ ملليمكرون، إلا أن هذه المسافة تكون كبيرة بالنسبة لبعض الفيروسات الأخرى؛ حيث تصل إلى ٤٠٠ - ١٠٠٠ ملليمكرون.

وبعد المنطقة المرستيمية الخالية من الفيروس، يتدرج تركيز الفيروس في المناطق التي تليها، حيث يكون التركيز الأكبر في الخلايا البالغة.

وليس من المفهوم حتى الآن الأسباب التي تجعل المنطقة الميرستيمية غير مناسبة لتكاثر الفيروسات، إلا أنه توجد بعض الفروض التي تحاول تفسير ذلك :

١ - منطقة النمو تنقسم بسرعة، وبالتالي تبعد بسرعة، وأن الفيروس لا يمكنه ملاحقتها أو الوصول إليها. ولكن هذا الفرض له نواقصه، ويعتبر أقل احتمالا حيث إن Bald و Solberg سنة ١٩٦٢ وجدوا أن القمة النامية من ساق نبات *N. glauca* تنمو بمعدل ١ سم في اليوم، وهذا يزيد بالفعل عن معدل السرعة المعروف بالنسبة لانتقال الفيروس من خلية لأخرى، ولكن إذا سقط الفيروس فعلاً في هذه المنطقة التي يزيد فيها حجم الخلايا، فإنه مع نمو الخلايا، لابد أن ينتقل إلى الامام.

٢ - وجود عوائق في طريق تقدم الفيروس، فعلى سبيل المثال تكون أقطار البلازموديسماتنا ضعيلة للغاية، إلا أنه لا توجد نتائج عملية نتيجة لتجارب حتى يمكن إثبات صحة هذا الفرض.

٣ - إن التغييرات البيوكيميائية التي تحدث في الخلايا ذات الانقسام النشط تعوق عملية تضاعف الفيروسات، ولكن ذلك مجرد افتراض يحتاج إلى إثبات حيث إنه ببساطة مازال من غير المعروف على وجه الدقة تلك التغييرات المشار إليها.

وبعد أن تكلمنا عن توزيع الفيروسات في الميرستيمات القمية، فإنه يمكن اعتبار طريقة زراعة الأنسجة الميرستيمية القمية من الطرق الفعالة لإنتاج نباتات خالية من الإصابة الفيروسية خصوصاً تلك النباتات التي تتكاثر خضرياً وتخليصها من بعض الفيروسات. وقد أوضح Hollings سنة ١٩٦٥ أنه في حالة زراعة الأنسجة الميرستيمية، يكون الميرستيم القمي وكذا الزوج الأول من البادئات الورقية *Primorodium* خالياً من الفيروس، ويختلف طول هذه المسافة عند النباتات المختلفة حيث يتراوح ما بين ٠.١ - ٠.٥ مم، إلا أن طول القمة المتبقية بعد المعاملة الحرارية عادة يتراوح بين ٠.٢ - ٢ سم، ويختلف أقل طول يمكن استخدامه في زراعة الأنسجة الميرستيمية باختلاف النباتات.

وحتى يمكن تمثيل كل النبات، يفضل عند زراعة الأنسجة أن يحتوى الميرستيم القمي

فيروسات النباتات

على الأقل على زوج واحد من البادئات الورقية *Primordium* . وقد استخدم الباحثون بيئات مختلفة لزراعة الأنسجة الميرستيمية، وتحتوى أساسا البيئة على الاملاح المعدنية (Macro and micro) والسكروز، وواحد أو أكثر من منشطات النمو (وعلى سبيل المثال الجبرلين) حينما تنمى الأنسجة على الآجار.

ومنذ أن اقترح Moral طريقة زراعة الأنسجة ١٩٤٨، شاع استخدام تلك الطريقة فى الحصول على النباتات الخالية من الفيروسات، وقد استطاع Hollings كما سبق أن ذكرنا أن يتخلص من ٢٢ فيروساً بهذه الطريقة. كما تستخدم هذه الطريقة بنجاح خصوصاً مع النباتات التى لا تتحمل المعاملة الحرارية. وفى بعض الأحيان تعطى هذه الطريقة نتائج جيدة إذا ما اشتركت مع المعاملة الحرارية؛ حيث تستخدم الميرستيمات القمية للنباتات المعاملة حرارياً. وفى مقاومة تلك الفيروسات التى يكون من الصعب التخلص منها، يمكن استخدام بعض المواد المثبطة، التى توقف تضاعف الفيروس، وفى هذه الحالة تضاف إلى البيئة الغذائية وقد استخدم Quak سنة ١٩٦١ لتخليص البطاطس من فيروس S & X مادة 2,4-D بتركيز ١٠ ppm. وبنفس الطريقة، أضاف Tinsley و Kassanis مادة ثيوراسيل 2-Thiouracil إلى البيئة للتخلص من فيروس Y البطاطس.

ويجب أن نذكر أن بعض الميرستيمات القمية فقط هى التى تعطى نباتات خالية من الفيروس، وحتى وقتنا هذا لم تعرف العوامل التى تؤدى إلى نجاح أو فشل هذه الطريقة، ومن الممكن افتراض ما يلى لتوضيح هذه الأسباب:

١ - على الرغم من غياب الفيروس فى الأنسجة الميرستيمية، إلا أن بعض تلك الأنسجة قد تكون ملوثة به سطحياً.

٢ - من الممكن أن تكون بعض أجزاء الميرستيم خالية من الفيروس، بينما يوجد الفيروس فى الأجزاء الأخرى.

٣ - الفيروس الموجود فى الخلايا الميرستيمية من الممكن أن يفقد نشاطه وحيويته عند زراعة تلك الأنسجة على البيئات الصناعية.

وعند استخدام طريقة زراعة الأنسجة للحصول على نباتات خالية من الفيروس، من

فيروسات النبات

الضرورى أن نتذكر أن النباتات النامية من الميرستيم، حتى ولو كانت سليمة ظاهرياً، فلا بد من فحصها للتأكد من خلوها؛ حيث إنه فى المراحل الأولى من النادر ان تظهر الاعراض المرضية.

الحرارة المنخفضة:

لم يدرس حتى الآن التأثير الذى تحدثه درجات الحرارة المنخفضة على نشاط الفيروس وحيويته دراسة وافية. وكان من الممكن أن ننتظر أن البرودة أو درجات الحرارة المنخفضة لا تؤثر على الفيروسات؛ خصوصاً تلك الفيروسات الثابتة فى العصير *in vitro*، ولكن ظهر بعد ذلك أن الزراعة فى ظروف درجات الحرارة المنخفضة تؤدى إلى تخليص النباتات من بعض الفيروسات.

فقد زرع Black و Selsky سنة ١٩٦٢ نوعاً من البرسيم عند ١٤م، وكان مصاباً بفيروس الورم القحشى. وفى هذه الظروف وبعد عدة أجيال، لم تلاحظ هذه الاورام ثم أخذت قطعة من نباتات الجيل الثالث، وزرعت فى صوبة فى ظروف طبيعية، ووجد أن ٩٥٪ من هذه القطع أعطت نباتات سليمة ظاهرياً، وكان ٩٠٪ من هذه النباتات خالية من الفيروس. ومازال من غير الواضح ميكانيكية تأثير درجات الحرارة المنخفضة على الفيروس، فقد يكون ذلك راجعاً إلى أنه فى ظروف البرودة يقل معدل تزايد الفيروس، أو إلى بقاء أو قلة سرعة تحركه فى النبات، وقد يفسر هذا سبب بقاء جزء من النبات خالياً من الإصابة. وهناك اعتقاد آخر يفسر به Black and Selsky ذلك، وهو يقوم على أساس أن تركيز الفيروس فى الورم يساوى ١٠٠ ضعف التركيز فى الأجزاء الأخرى، وأن انخفاض الحرارة يؤدى الى عدم تكون الاورام، وبالتالي ينخفض تركيز الفيروس فى الأجزاء التى يتضاعف بها، ثم ينتشر فى بقية أجزاء النبات.

العلاج الكيماوى:

لقد تناقضت النتائج التى أسفرت عنها التجارب العديدة، التى أجريت بغرض تخليص النباتات من الإصابة الفيروسية باستخدام بعض المواد المضادة للفيروسات. ويوجد قليل من الإشارات حول نجاح بعض التجارب فى شفاء النباتات باستخدام مثل هذه المواد، إلا أن النتائج التى تحصل عليها هؤلاء الباحث كانت نتيجة استخدام عدد ضئيل من النباتات، أو

كانت النتائج نفسها لا تعبر عن الواقع، وحتى الآن لم يعرف أى مركب كيمائى طريقه إلى الاستعمال العملى فى الإنتاج الواسع.

وقد وجد Pine سنة ١٩٦٧ أن حقن أشجار الخوخ بمركب Dimethylsulphoxide الممكن أن يؤدى إلى اختفاء أعراض فيروس موزايك الخوخ فى خلال سنة واحدة، وكذا فيروس التنقط والحلقات التكرورية، إلا أن هذه الأعراض تعود للظهور مرة أخرى فى العام التالى.

وكما سبق أن ذكرنا فإنه يمكن استخدام العلاج الكيمائى بمصاحبة العلاج الحرارى، أو بمصاحبة طرق أخرى مثل طريقة زراعة الأنسجة الميرستيمية.

حماية النباتات الخالية من الفيروس من العدوى الثانية:

بعد أن نحصل على النويات الخالية من الفيروسات بهذه أو تلك من الوسائل السابق الإشارة إليها، فإنه يجب إكثار مثل هذه النويات فى ظروف، لا تسمح بإعادة إصابتها بالأمراض الفيروسية مرة أخرى، وتسمح بتقييم جدواها الإنتاجية وتطابقها الوراثى للام.

ثم يجرى بعد ذلك إكثار الإنتاج للأغراض التجارية . ويجب أن يراعى فى وقت إكثار وتوزيع التقاوى الخالية من الفيروسات، إجراء ملاحظة مستمرة فى جميع العمليات المرتبطة بالزراعة والبيع. والمثال الكلاسيكى لهذه الملاحظة نجده فى نظام الاعتماد وإعطاء الشهادات المعمول به فى بريطانيا، والذي بفضل تضاعف محصول البطاطس ثلاث مرات، وكان السبب فى ذلك هو خفض نسبة الأمراض الفيروسية؛ حيث تزرع التقاوى المفروضة أنها خالية من الفيروسات بعد فحصها فى مساحات معزولة فى مناطق محددة، تكون غير مناسبة لهجرة المن وتكاثره على البطاطس، ثم تزرع النويات المنتجة بهذه الطريقة لإنتاج تقاوى عالية القيمة تزرع حينئذ، فى جميع أنحاء إنجلترا، فى مساحات تمتاز بضائقة كمية المن بها. وباستمرار يتم فحص شبكة النويات الخالية من الإصابة الفيروسية، كما ساعد استخدام المبيدات الحشرية فى توسيع شبكة المناطق التى يمكن فيها إكثار النويات لإنتاج التقاوى.

وفى الوقت الحاضر تتبع كثير من دول العالم مثل هذا النظام وغيره من النظم بالنسبة

تختلف محاصيل الحقل واليستان؛ بما فى ذلك أشجار الفاكهة والعنب والحلويات والبطاطس. وبالنسبة لبعض المحاصيل خصوصاً تلك التى تزرع من أجل زهورها أو درناتها أو أبصالها.. فإن هذه البرامج تكون محدودة تبعاً لخصائص المحاصيل المختلفة.

ومن الأسئلة التى تظهر دائماً عند زراعة التقاوى المعتمدة (الخالية من الفيروس) سواء كانت بذوراً حقيقية أو أجزاء خضرية، الأسئلة التى تتصل بعدد النباتات، التى يجب فحصها حتى يمكن السماح باستخدام هذه التقاوى. وفى رأى Markham et al سنة ١٩٦٣ يجب أن يكون حجم العمل فى الاختبارات محدوداً، ولذلك يجب ألا نختبر النباتات الفردية، ولكن مجموعات منها. تجمع هذه المجموعات عشوائياً، وبعد ذلك تقارن الإصابة الحقلية بنسبة الإصابة التى قدرت فى المجموعات. وتزيد جدارة هذا الاختبار كلما زادت أعداد النباتات المراد اختبارها.

وسائل المقاومة بالعمليات الزراعية:

إخلال دورة العدوى:

لو زرع فى منطقة ما محصول يعتبر العائل الرئيسى لفيروس ما أو محاصيل قريبة له، فإنها تعتبر عوائل رئيسية لهذا الفيروس أيضاً، ولذلك فإنه يمكن خفض نسبة الإصابة لدرجة ملحوظة إذا ما صممت الدورة الزراعية؛ بحيث لا يوجد أى من هذه المحاصيل لوقت ما.

ومن أحسن الأمثلة على ذلك هو توحيد مواعيد زراعة القمح الشتوى فى وقت مبكر، بحيث لا يحدث أن توجد نباتات خضرية فى وقت واحد مع القمح الربيعى والقمح الشتوى. وتعطى هذه الطريقة نتائج جيدة خصوصاً إذا ما صاحبها اقتلاع البقايا النباتية والنجيليات البرية القابلة للإصابة بفيروس الموزايك المخطط فى القمح.

وإذا ما رعى الحفاظ على الفترات التى لا تزرع بينها أى من المحاصيل القابلة للإصابة بالفيروس نفسه، فإن ذلك يعطى نتائج جيدة بالنسبة لعدد آخر من الفيروسات؛ خصوصاً تلك الفيروسات ذات المجال العوائل المحدود، والتى تنتشر بواسطة المن. فعلى سبيل المثال فى كاليفورنيا حيث يزرع الكرفس Celery فى منطقتين.. فإن محصول هذه الزراعات منذ سنة ١٩٣٠ حتى سنة ١٩٤٣ تناقص باستمرار، وفى عام ١٩٣٥ لم يزرع هذا المحصول لمدة خمسة أشهر، فزاد المحصول، ثم زاد المحصول أكثر فأكثر بزيادة هذه المدة.

وهناك مثال آخر على فيروس التقزم الاصفر فى البصل، حيث زرع هذا المحصول فيما بين ١٩٣٩ - ١٩٤٥ فى نيوزيلندا، وكان من نتيجة الإصابة الوبائية بهذا الفيروس فى هذه المنطقة أن منعت بها زراعة البصل، كما قام الزراع أيضا بإزالة البصيلات والنباتات المختلفة فى الحقول، وقد أدت هذه الإجراءات إلى منع ظهور هذا المرض فى هذه المنطقة .

تغيير مواعيد الزراعة :

إن الأمراض الفيروسية غالبا ما يشتد تأثيرها وينخفض المحصول بصورة أكبر، إذا ما حدثت الإصابة فى مراحل مبكرة من عمر النباتات، ومن ناحية أخرى فإن النباتات الناضجة غالبا ما تكون أكثر تحملاً للإصابة من البادرات، كما أن تحرك الفيروس بها يكون بطيئاً - ولذلك فإن موعد الزراعة قد يكون ذا تأثير على موعد ظهور الإصابة وانتشارها فى الحقل إذا ما كان الحديث يدور حول الفيروسات التى تنتشر بواسطة الحشرات .

ولذلك فإن أفضل مواعيد الزراعة هى تلك التى تراعى مواعيد التزايد القصوى فى أعداد المن الناقل للفيروسات وهجرته . فإذا كان المن يهاجر مبكراً، فمن الممكن أن ينصح بتأخير الزراعة بعض الشيء، وعلى العكس إذا كانت هجرة المن تأتى متأخرة، فهنا ينصح بالتبكير فى الزراعة حيث تكون النباتات كبيرة نسبياً فى وقت هجرة المن إليها، ومن أمثلة ذلك أنه عندما زرعت البطاطس فى اسكتلندا فى الأسبوع الثالث من مايو، زادت نسبة الإصابة بفيروسات التفاف الأوراق وفيروس Y زيادة كبيرة عما إذا زرعت البطاطس فى الأسبوع الأول من إبريل، حيث إن الموعد الأخير يسمح للنباتات بالنمو فترة مناسبة قبل وصول المن إليها .

وإذا ما جرى الحديث عن التغيير فى مواعيد زراعة أو تقليع المحصول للإقلال من الإصابة الفيروسية، فإنه لا بد وأن تراعى تأثير ذلك على النواحي الاقتصادية والتجارية الأخرى، فعلى سبيل المثال فقد وجد Broadbent أن الزراعة المبكرة للبطاطس والتقليع المبكر يؤديان إلى خفض نسب الإصابة بالفيروسات، إلا أنها من ناحية أخرى أعطت محصولاً أقل كثيراً؛ مما يجعل تأثيرها من ناحية خفض الإصابة الفيروسية تأثيراً سلبياً .

لقد سبق أن ذكرنا أنه فى حالة الزراعة الكثيفة يلاحظ انخفاض نسبة الإصابة الفيروسية . وقد درس تأثير كثافة الزراعة أو تقارب النباتات أو زيادة عدد النباتات فى وحدة المساحة على الإصابة الفيروسية، وعلى انتشار المن الناقل، وعلى المحصول على نباتات الفول السودانى . ويفحص المناطق المزروعة بكثافات مختلفة، أعطت نتائج متشابهة فى مواسم مختلفة، وقد وجد أيضا أن أعداد المن على النباتات كانت أكبر فى حالة النباتات المنزوعة على مسافات واسعة .

وعلى الرغم من انخفاض نسبة الإصابة فى حالة الزراعة الكثيفة، إلا أن التنافس بين النباتات والتزاحم بينها يؤدى فى النهاية إلى خفض المحصول، بينما تزيد قيمة التقاوى المأخوذة منها لقلة الإصابة الفيروسية بها . ويفضل استخدام كثافات الزراعة التى تسمح فقط بأن تكون التربة جميعها مغطاة بالنباتات، ولا يزيد عن ذلك حتى لا يزيد التزاحم بين النباتات، مما يؤدى إلى نقص المحصول . ويرى هل Hull أن زيادة أعداد المن على النباتات المزروعة على المسافات المتباعدة يرجع إلى التجاذب المن إلى اللون الأصفر، ويفسر ذلك بتباعد النباتات، وبالتالي ظهور أوراقها الأولية الصفراء، ولكن هذا التفسير لا ينطبق فى حالة التجارب السابق شرحها فى حالة الفول السودانى، حيث كان التباعد بين النباتا دائما ملحوظا .

إزالة الأجزاء النباتية التى توجد فوق سطح التربة :

حتى يمكن تحديد انتشار الفيروس فى نهاية موسم النمو الحضرى .. فإن بعض البرامج التى تهدف إلى إنتاج التقاوى الحالية من الفيروس ترى جمع النباتات مبكرا قبل الموعد المحدد، وهذا ما يحدث عند إنتاج تقاوى البطاطس فى هولندا، حيث يحددون هناك موعد تقليم المحصول بمواعيد ظهور المن الناقل للفيروسات أو على الأقل حش العرش .

وقد وجد Beemster أنه لو لم يحش العرش تماما، فإن هذه الطريقة تعطى نتائج عكسية؛ لأن ذلك يسرع من وصول الفيروس Y & L إلى الدرناات الجديدة، ولو أن تفسير ذلك غير واضح، إلا أنه من الواضح أن الحش يؤدى إلى خروج براعم جديدة، يفضل المن أن

فيروسات الذبذبات

يتجه إليها، ولذلك فيجب حرق العرش كلية، ويحدد ذلك بعد ١٥ يوماً من ظهور المن، حيث وجد أن هذه المدة تكفى لوصول الفيروس من العرش إلى الدرنات الجديدة.

مقاومة الناقلات:

قبل أن نتخذ أى إجراء، لابد بادئ ذي بدء أن نحدد الناقل المسئول عن انتشار الفيروس، وفى بعض الأحيان يكون من الصعب الحصول على تلك المعلومات.

حيث إنه دار البحث على مدى عدد كبير من السنين عن الناقل، الذى يقوم بنشر فيروس موزايك الخوخ فى ولاية كاليفورنيا الأمريكية. ولهذا الغرض تم اختبار أكثر من ١٥٠ نوعاً من الحشرات، حتى نجحوا فى النهاية من إثبات أن هذا الفيروس ينتشر بواسطة الأكاروس *Eriophyes insidioses*، وفى كثير من الأحيان لا يكون الناقل الرئيسى أو حتى الناقل الوحيد لفيروس ما نوعاً مرتبطاً باستمرار بهذا المحصول أو ذاك، وقد يكون الناقل حشرة تتواجد مصادفة على هذا المحصول. وقد وجد فى أستراليا أن فيروس اصفرار الخس النيكرىزى ينتقل أساساً من *Hyperomuzas Lactucae*، وهذا المن يتكاثر أساساً على بعض أنواع النباتات البرية أو الحشائش الحساسة لهذا الفيروس (*Sonchus sp.*). وعلى الرغم من أن هذا المن ينشر الفيروس المذكور على الخس، إلا أنه لا يمكنه أن يعيش عليه طويلاً لمدة لا تزيد عن بضعة أيام قليلة. ومع ذلك فلا بد أن تكون نباتات الخس جذابة بطريقة ما لهذه الحشرات؛ حيث إن النباتات الأخرى التى وجدت مصادفة مع الخس لم تصب بالمن ولا بالفيروس، على الرغم من قابليتها للإصابة بالفيروس تجريبياً.

أولاً: مقاومة الحشرات الناقلة:

أ - المبيدات الحشرية:

فى مقاومة الحشرات الضارة بالزراعة، يستخدم عدد كبير من المبيدات المختلفة. ولمقاومة الحشرات التى تسبب ضرراً مباشراً للمحصول، لابد بداهة من تقليل أعدادها إلى أدنى حد ممكن، أو إلى الحد الذى فى وجوده لا يحدث ضرراً اقتصادياً للمحصول. ولكن أصعب من ذلك بكثير مقاومة الحشرات الناقلة للفيروسات، على الرغم من أنها فى حد ذاتها قد لا

تسبب ضرراً مباشراً ملموساً للمحصول؛ حيث إنه تكفى أعداد قليلة من الحشرات لنقل الفيروسات ونشره بين النباتات، وخصوصاً من الحشرات المجنحة. وتعطى المبيدات التي تؤثر باللمس نتائج مرضية في حالة استخدامها دورياً أى رشها عدة مرات. إلا أن المبيدات الجهازية والباقية تعتبر أفضل من سابقتها في مقاومة الحشرات الناقلة للفيروس، وخصوصاً إذا ما كانت هذه المبيدات سارية في العصارة؛ وحيث إن كثيراً من الأمراض الفيروسية ينتقل إلى الحقول بواسطة المن المجنح الذي يمكنه أن ينقل الفيروس عند أول محاولة للتغذية على النباتات، حتى ولو ماتت بعد ذلك مباشرة بفعل المبيدات الجهازية، خصوصاً إذا كان الفيروس ينتقل على أجزاء فم الحشرة. وفي هذه الحالة أيضاً؛ أى حينما يكون الفيروس غير باق بالحشرة، فإن بقاء الحشرة فترة طويلة على النباتات، فإنها سرعان ما تفقد الفيروس، ولذلك لا توجد ضرورة بعد ذلك في قتل الحشرة (هذا في حالة ورود العدوى من الخارج)، وعلى العكس من ذلك يكون التعامل مع الفيروسات الدوارة (الداخلية) بالحشرة أو المتكاثر بها، حيث إن المن يستطيع أن يعدى بها عدداً كبيراً من الفيروسات، ولذلك فإن مقاومة هذه الحشرات وقتلها أثناء تغذيتها الأولى يكون مجدياً، ويؤثر بشكل ملحوظ في الحد من انتشار مثل تلك الفيروسات.

أما بالنسبة لانتشار الفيروس داخل الحقل نفسه.. فإن العوامل السابق ذكرها نفسها تؤثر التأثير السابق ذكره نفسه، حيث إنه في حالة الفيروسات الدوارة (الداخلية) فإن الحشرة تتغذى فترة طويلة على النبات المصاب، ولذا فإن استخدام المبيدات يكون مجدياً عن تلك التي تنقل على أجزاء فم الحشرة (خارجية Stylet - borne viruses).

وقد وجد برت Burt سنة ١٩٦٤ هذا الاختلاف عند دراسة تأثير اثنين من المبيدات الجهازية على انتشار فيروسين من فيروسات البطاطس؛ حيث أمكن الحد من انتشار فيروس التفاف أوراق البطاطس، وهو فيروس من الفيروسات الباقية، بينما لم تؤد المعاملة بهذين المبيدين إلى أى تأثير على انتشار فيروس Y البطاطس، وهو أحد الفيروسات غير الباقية (الخارجية).

وحتى يمكن تحديد الوقت الذي يتم فيه أكبر انتشار لفيروس التفاف الأوراق على

البطاطس فى إنجلترا، أجرى برت Burt تجارب على معاملة الزراعات بالمبيدات الجهازية فى فترات مختلفة من مراحل نمو النباتات. وقد اتضح من نتائج هذه التجارب أن الوقت الفعال فى نشر هذا الفيروس هو هجرة المن المنجنى فى أول موسم النمو الحضرى، ولذلك يوصى برت Burt بإجراء المعاملة بالمبيد الجهازى مبكراً بقدر الإمكان.

كما هو الحال بالنسبة لفيروس Y البطاطس، فإن فيروسات أخرى غير باقية مثل فيروس موزايك خس اللاتوكا لم تؤثر المعاملة بالمبيدات الجهازية أى تأثير فى خفض نسبة الإصابة بها. إلا أن الرش بالمبيدات له بعض جوانبه السلبية؛ حيث إن ذلك يعتبر عملية إضافية تعرض النباتات للتلف بفعل الجراثيم أو الآلات الرش، ولهذا فإنه فى كثير من الأحيان لا يمكن إجراء عملية الرش فى الوقت اللازم أو الأكثر مناسبة لإجرائها. ومن ناحية أخرى فإنه عند إجراء عملية الرش من الممكن أن يحمل المبيد بفعل الرياح ويتلف محاصيل أخرى. إلا أن السلبيات السابق ذكرها يمكن استبعادها فى حالة استعمال المبيدات الجهازية المحببة (Granules) حيث يمكن وضعها فى التربة وقت الزراعة. وعند زراعة البطاطس من الممكن وضع الكمية المناسبة من المحببات بمساعدة آلة خاصة تضاف إلى ماكينة زراعة البطاطس، وقد أعطت مثل هذه المحببات تأثيراً لا بأس به فى خفض انتشار فيروس التفاف أوراق البطاطس.

ويعتبر الداى سولفاتون Disulphaton والفورات Phorat من المبيدات الجهازية المحببة، التى تعطى نتائج جيدة فى مقاومة حشرات المن. وحيث إنها بطيئة الذوبان فى الماء فإنهما يظلان بالتربة فترة طويلة، ولذلك تقوم النباتات بامتصاصها على مدى فترة طويلة، وقد وجد أن هذين المبيدين يقيان البطاطس من المن لمدة لا تقل عن عشرة أسابيع بعد الزراعة. وفى بعض التجارب وجد أنه على مدى ٥٥ - ٦٥ يوماً من الزراعة وجدت حوالى من ١٣٠٠ - ٣٥٠٠ فرد من المن على أوراق النبات غير المعامل، بينما كانت أعداد المن على النباتات المعاملة من ١٠ - ١٥ فرداً. ولقد أدت مثل هذه العملية إلى خفض انتشار فيروس التفاف أوراق البطاطس من النباتات المصابة إلى السليمة. إلا أنه يجب أن نذكر أن مثل هذه المبيدات الجهازية المحببة لا تعطى نتائج إيجابية باستمرار، فعلى سبيل المثال عند معاملة

البسلة بمثل هذه المبيدات أصبحت النباتات سامة بالنسبة للمن، ولكن هذه المعاملة لم تنجح في خفض نسبة الإصابة بفيروس موزايك البسلة العادى وفيروس تشوه البسلة وهو فيروس باق.

ويجب أن يشار إلى أن استخدام المبيدات غير المناسبة يؤدي إلى رفع نسبة الإصابة بالفيروسات، وذلك إما لأنها تقتل المفترسات التي تتغذى على المن أو لتأثيرها المباشر على النباتات. وفي سنة ١٩٦٤ وجد Broabent et al. أنه عند رش النرجس أو تعفيره بواسطة الـ D.D.T. أو أحد المركبات الفوسفورية أدى إلى زيادة انتشار فيروس الاصفرار المخطط بصورة أكثر من انتشاره في الزراعات غير المعاملة؛ حيث نشطت بعد المعاملة حشرات المن الممنج، بينما لم تتأثر أعداد المن غير الممنج.

وكذلك الحال في حالة فيروس اصفرار بنجر السكر؛ حيث تزداد نسبة الإصابة به، عندما تعامل النباتات بمادة الـ D. D. T. أو التراى كلوروفون Trichlorophon، إلا أن استخدام المبيدات العضوية الفوسفورية أدى إلى خفض نسبة الإصابة به لحد ما بواسطة المن خلال المزرعة نفسها. وتتوقف القيمة الاقتصادية للرش على الوقت ودرجة انتشار الفيروس في مزرعة ما.

ففي إنجلترا وجد أن المعاملة خلال شهر يونيو تؤدي إلى زيادة المحصول في حالة ما إذا كانت نسبة الإصابة في الحقول غير المعاملة أكثر من ٢٠٪. ولذلك فإن إجراء الرش الوقائي بواسطة الزراع الإنجليزي لتحديد أساساً على الحصر السنوى للمن، الذي يتغذى على محصول ما. ولذلك فإن الزراع يجدون ظهور عدد فرد واحد من المن على كل ٤ نباتات، تحذيراً لهم فيقومون بإجراء عمليات الرش بالمبيدات.

ومن العوامل المؤثرة في نجاح عملية المقاومة بالمبيدات هو وقت إجراء الرش، ومن سنة ١٩٦٢ حتى سنة ١٩٦٦ حيث كان يجرى الرش على أساس أعداد المن، أدى إلى خفض نسبة الإصابة بفيروس الاصفرار بنسبة ٣٧٪، وإذا تم إجراء الرش مبكراً أو متأخراً عن تلك المواعيد بمدة أسبوعين فإن معدل الانخفاض في الإصابة لم يتجاوز ٢٥٪.

وفي حالة فيروس التقزم الاصفر في الشعير الذي يعتبر الفيروس الأساسى الذى يصيب

القمح في نيوزيلنده، وجد ان هناك فترتين لانتشار الفيروس على زراعات هذا المحصول: الفترة الاولى في الربيع « مايو » حينما ينقل المن المجنح العدوى من الخارج، حيث لا يوجد إلا عدد قليل من المن تقضى الشتاء على الزراعات، بينما تأتى الفترة الثانية لانتشار الفيروس حينما يبدأ تكاثر المن على المحصول، ويقوم بنشره داخل المزرعة نفسها، ويكون ذلك فى الخريف خلال سبتمبر ونوفمبر.

وعند اتباع نظام الرش على أساس إعداد المن، فيجب إجراء الرش فى هذه المواعيد، وهذا الفارق الكبير من يونيو وسبتمبر يعطى فرصة أكبر لاختيار مواعيد الرش بصورة أفضل وأسهل منه فى حالة زراعة بنجر السكر فى أوروبا حيث الفترة قصيرة.

ب - الرش بالمعلقات الزيتية:

لقد وجد أنه بعد أن قامت أفراد من المن الحامل للفيروس من وخز أغشية شمعية، انخفضت قدرتها بشكل ملحوظ على نقل فيروس Y البطاطس، وكان من الواضح أن هذا الانخفاض لم يكن للشمع فيه دخل، وإنما للمادة الزيتية الموجودة به، وقد أظهرت مواد زيتية أخرى التأثير نفسه.

ولقد أدت مثل هذه التجارب الى وضع الأساس لاستخدام الرش بالمعلقات الزيتية، كإحدى وسائل مقاومة أو الحد من انتشار الفيروسات النباتية بواسطة المن. ومن الصعوبات التى واجهت استخدام مثل هذه الطريقة هو سمية مثل هذه المعلقات على النباتات، وأيضاً كان من الصعب تغطية النباتات تماماً بواسطة المعلق الزيتى تغطية متجانسة، بما فى ذلك الأسطح السفلى للأوراق أيضاً.

وقد قام Loebenstein et al سنة ١٩٦٤ بإجراء تجارب فى الصوب الزجاجية، ووجدوا أن رش الخيار بمعلق مائى ١٪ من الزيت المناسب، مع إضافة مادة ناشرة قد أدت إلى وقاية نباتات الخيار من الإصابة بفيروس موزايك الخيار، الذى ينتشر بواسطة حشرات من القطن *Aphis gossypii*. وبعد ذلك وجد Loebenstein ومساعدوه أن الرش بالمعلقات الزيتية يؤدى إلى خفض نسبة انتشار فيروس موزايك الخيار، وأنها تعطى نتائج إيجابية أيضاً على المحصول لو كانت الإصابة تحدث فى أول الموسم؛ حيث إن نمو النباتات غير المعاملة قد تأثر

فيروسات الذبذبات

بشدة نتيجة الإصابة ولم ينتج عن استعمال هذه المعلقات أى تأثير ضار على النباتات خصوصاً فى ظروف الرى بالرش .

وأغلب التجارب التى أجريت على مدى إمكانية استخدام المعلقات الزيتية فى الرش الوقائى ضد الفيروسات أجريت على الفيروسات المحمولة على الإبر الفكية، ولكن وجدت نتائج إيجابية أيضاً مع بعض الفيروسات الأخرى مثل فيروس اصفرار بنجر السكر Sugar beet yellows .

وبعض الزيوت لها تأثير متخصص فزيت الذرة مثلاً يمنع نشر فيروس موزايك بنجر السكر بواسطة من الخوخ الأخضر *M.persicae* ، ولكنها لا تؤثر على نقل فيروس اصفرار بنجر السكر . ولم يزل إلى الآن غير واضح ميكانيكية تأثير المعلقات الزيتية على نقل الفيروسات بواسطة المن . إلا أنه وجد أن الزيوت التى يحتوى الجزئ منها على ١٦ أو أقل من ذرات الكربون تكون غير فعالة، وقد يرجع ذلك إلى قابليتها للتطاير . وإلى جانب ذلك فإن رش النباتات بالمعلقات الزيتية يجعل من الصعب على حشرات المن أن تكتسب الفيروس؛ حيث وجد أنه فى ظروف معينة أن رش النباتات المصابة والسليمة بالمعلقات الزيتية يؤدى إلى خفض نسبة الإصابة الفيروسية الواردة من الخارج .

ويعرف حتى الآن أكثر من عشرة فيروسات من مجموع ١٠٠ فيروس، تنتقل على الإبر الفكية للمن تجدى معها طريقة الرش بالمعلقات الزيتية . وهذه المعاملة تعتبر اقتصادية فى حالة الفيروسات التى تسبب خسائر سنوية كبيرة فى الحصول . وتتفوق المعلقات الزيتية على المبيدات الحشرية فى أن الأولى لا تعتبر سامة بالنسبة للحيوانات أو الإنسان .

جـ - المقاومة غير الكيماوية للحشرات الناقلة :

لقد اختبر عديد من الوسائل التى تعمل كسياج، يمنع الحشرات الناقلة من الوصول إلى محصول ما أو إزعاجها . ففى بعض الأحيان تحمى النباتات الطويلة أو العالية النباتات الصغيرة من الإصابة بالحشرات وبالتالي الفيروسات . وهذا ما يحدث عند زراعة الذرة مع الكوسة فى مكان واحد . وقد وجد أن هذه المحاصيل الواقية أو السياجية تلعب دوراً مهماً فى

فيروسات الذباب

ظروف معينة في خفض نسبة الإصابة بالأمراض الفيروسية، فقد وجد Broabent سنة ١٩٥٧ أنه إذا ما زرع حول الكرنب عدة خطوط من الشعير ضيق الأوراق؛ بحيث تكون المسافة بين كل خط وآخر ٣٠ سم فإن نسبة الإصابة بالفيروس في حقل الكرنب تنخفض بنسبة ٢٠٪ ومن المعروف أن الشعير لا يصاب بالفيروسات التي تصيب الصليبيات.

وهنا فإن عدداً كبيراً من المن القادم من خارج المزرعة يهبط على الشعير «المحصول الواقى» وتحاول أن تتغذى عليه أو تطير مرة أخرى، فلو هبطت بعضها على الكرنب فإنها تكون لحد كبير فقدت أى فيروس غير باقى أى محمول على الإبر الفكية، عند بداية تغذيتها على الشعير.

وقد وجد Nitzany سنة ١٩٦٤ أن بعض النباتات العشبية في وادى الاردن من الممكن أن تحمى الخيار من الإصابة بفيروس موزايك القرع العسلى الذى ينتقل بواسطة الذباب الأبيض. وقد وجد أن استخدام هذه النباتات حول وبين مزرعة الخيار يؤدي إلى خفض نسبة الإصابة بهذا الفيروس بدرجة ملحوظة، كما زاد المحصول زيادة كبيرة.

كما توجد بعض المعلومات التي تشير الى استخدام اشربة الالمونيوم لحماية بعض الزراعات من المن الناقل للفيروسات؛ حيث يعتقد أن الحشرات التي تقترب من هذا الحقل تزعجها الاشعة فوق البنفسجية التي تعكسها مثل هذه الاشربة. وعلى حد قول Smith سنة ١٩٦٤ أنه عند وضع هذه الاشربة على خطوط وسط الجلايدولس، انخفضت أعداد المن بما يوازي ٩٥٪، كما انخفضت نسبة الإصابة بفيروس موزايك الخيار إلى حوالي الثلث.

ومن ناحية أخرى عندما استخدمت هذه الوسيلة لحماية الشمام، لم تؤد إلا إلى تأخير ظهور الاعراض لفيروس موزايك البطيخ، كما استخدمت هذه الطريقة لإنتاج أنواع عالية القيمة من الكريزانتيم ولكن دون جدوى.

د- وقاية النبات باستخدام المفترسات وطفيليات الحشرات:

من المعروف أن من غير المشكوك فيه أن المفترسات والطفيليات تلعب دوراً كبيراً في الحد من أعداد المن. وفي بعض الأحيان يؤدي ظهور المفترسات إلى الحد من انتشار فيروس ما إذا

ظهرت قبل الهجرة الاولى للمن، حيث إن الفترة الاولى هي أهم فترة لانتشار الفيروس، ومع ذلك فإنه عادة ما يكون تأثير مثل تلك المفترسات غير كبير.

إلا أن Stubbs سنة ١٩٥٦ يرى أن فيروس التقزم المخطط في الجزر الذي يظهر بصورة وبائية في أستراليا لا يسبب مثل هذا الضرر في كاليفورنيا، ويعزى ذلك إلى وجود بعض المفترسات التي تفترس حشرات المن *Cavariella aegopodii*، بينما لا توجد مثل هذه المفترسات في أستراليا. ومنذ وقت قريب قاموا بجلب أحد هذه المفترسات إلى ولاية ملبورن؛ مما أدى إلى اختفاء المن، وأصبح هذا المرض لا يسبب خسائر كبيرة في الولاية.

ثانيا: النيماتودا الناقلة:

عند معاملة التربة بالمبيدات النيماتودية يجب أن يوضع في الاعتبار وقاية النباتات من الفيروسات التي تنتشر بواسطة حيوانات النيماتودا. وحيث إن تحرك وانتشار النيماتودا يحدث عادة ببطء فإنه يجب أن يوضع في الاعتبار أن تأثير هذه أو تلك من المعاملات يجب أن يستمر لفترة أطول من فترة تأثير المبيدات الحشرية. ومن ناحية أخرى كما يقول Sol سنة ١٩٦٣ إن النيماتودا الحاملة للفيروس من الممكن أن توجد على أعماق كبيرة في التربة قد تصل إلى ٨٠-١٠٠ سم. وبالتالي فمن الممكن جدا أن تتلوث التربة المعاملة مرة أخرى عن طريق النيماتودا القادمة إليها من الأعماق؛ أي من تلك الأماكن التي لم يصل إليها تأثير المبيد أو حيث هاجرت واختبأت بها حتى لا يصل إليها تأثير التدخين.

وقد أجرى Harrison et al سنة ١٩٦٣ تجارب حقلية في بعض المناطق في جنوب إنجلترا وأوضحوا أن نتائج المعاملة الصيفية للتربة بواسطة داي كلوروبروبان داي كلوروبروبين (D.D.) أو ميثايل بروميد بمعدل ١٠٠٠ كم للهكتار أدى إلى موت أكثر من ٩٩% من النيماتودا *X. diversicaudatum* الموجودة في التربة. كما أدت المعاملة إلى خفض نسبة إصابة الشليك بفيروس موزايك الأرابيس Arabes mosaic virus. وكان الشليك قد زرع بعد التدخين وفحصت خلال ١-٣ سنوات. وعند استخدام المبيدين المذكورين لوحظ موت النيماتودا حتى عمق ٧٠ سم، وهو أكبر عمق أخذت عنده العينات. وقد لوحظ أن هناك علاقة طردية بين نسبة الإصابة في النباتات المزروعة في المناطق المعاملة بالتدخين، وبين

فيروسات النباتات

اعداد النيماتودا التى تظل نشطة . فقد وجد أن حينما قتل ٩٩٪ من النيماتودا تنخفض نسبة الإصابة بنسبة ٩٧٪، وعندما قتل ٩٠٪ من النيماتودا، تنخفض نسبة الإصابة بمعدل ٦٥٪، ويجب أن يراعى أن تجرى عملية تدخين التربة مرة واحدة كل عدة سنوات؛ حيث وجد Taylor و Murdnt سنة ١٩٥٦ أن تدخين التربة مرة واحدة بواسطة D.D أو بنتاكلورونيتروبنزين «BCNP»، تحمى تماما الشليك من الإصابة بفيروس النقط الحلقية السوداء فى الطماطم، وفيروس التنطق الحلقى فى الشليك الأمريكى، وهذين الفيروسين ينتقلان بواسطة نيماتودا *L.elongatus*، وكان أفضل المبيدات هو المبيد BCNP حيث إنه لم يحدث أى تأثير على نمو النباتات، ولأنه لوحظ أن المعاملة بمبيد D.D تؤدى إلى زيادة حساسية النباتات للإصابة بفطر *Botrytis* فى الأوقات الرطبة؛ وحيث إن نيماتودا *Longidorus elongatus* ذات مجال عوائل واسع للغاية من بين النباتات المزروعة والبرية، فإنه لا يمكن مقاومتها باتباع الدورة الزراعية فقط، حتى إذا تركت الأرض بوراً فإن هذه النيماتودا من الممكن أن تعيش فترة طويلة فى التربة دون أن يتوفر لها الغذاء. ولا يمكن تخليص التربة من هذه النيماتودا إلا باستخدام المبيدات النيماتودية، ولذلك فطريقة المقاومة الكيميائية هى الوحيدة، التى يمكن استخدامها فى مقاومة الفيروسات التى تنتشر بواسطة هذا النوع من النيماتودا، ولكن الثمن المرتفع لمثل هذه المبيدات يحد كثيراً من استخدامها، ومن الممكن استخدامها بصورة اقتصادية فى محاصيل معينة خصوصاً أشجار الفاكهة.

ثالثاً: الفطريات:

لقد وجد أنه عند زراعة الخس العادى فى الصوب أن نسبة الإصابة بفيروس العرق الكبير Big vein of lettuce تنخفض بدرجة ملحوظة، إذا ما دخت التربة قبل الزراعة بمخلوط من الكلوروبيرين و D.D.C، وقد أجريت فى الحقل تجارب ناجحة لحد ما للتخلص من فطر *Olpidium*، وهو الفطر الناقل لهذا الفيروس. وقد وجد Marial و Mckittrelek سنة ١٩٦٤ أنه عند معاملة المساحات المزروعة بواسطة BCNP بمعدل ٨٠ كم هكتار، فإن إصابة نباتات الخس بفيروس العرق الكبير تنخفض الى النصف، وقد امتد تأثير هذه المعاملة لمدة عامين إلا

أن نضج النباتات تأخر بعض الشيء.

رابعاً : الإنسان :

يعتبر الإنسان هو الناقل الأساسي لبعض الفيروسات، خصوصاً تلك التي تنتقل ميكانيكياً مثل فيروس TMV أثناء عملياته الزراعية والعناية بمحصوله، فلو كانت نباتات مثل الدخان والطماطم مصابة فعلاً بفيروس TMV فيكون من الصعب جداً الحد من انتشاره خصوصاً عند تزاخم النباتات وتلامسها. وينصح الزراع باتخاذ بعض الاحتياطات أثناء إجراء عملياتهم الزراعية، وذلك بغسل وتطهير الأيدي، ويستخدم لهذا الغرض محلول ٣٪ اورثوفوسفات الصوديوم . ويرى Malholland سنة ١٩٦٢ أنه إذا ما استخدمت سكاكين خاصة في تقطيع النباتات أو حشها، فإنه يمكن الحد من انتشار فيروس TMV بدرجة ملموسة، وهذه السكين تكون مزودة بيد متفخخة من البلاستيك تملأ بمحلول ١٠٪ فوسفات الصوديوم، مع إضافة مادة منظفة ووقت العمل فإن المحلول ينساب ببطء على حد السكين. كما أن ملابس العمل تلوث بشدة بفيروس TMV ، ومنها ينتشر الفيروس عند تلامس الملابس الملوثة مع النباتات السليمة.

كما يمكن للفيروس أن يعيش طويلاً على الملابس المحفوظة في الأماكن المظلمة المغلفة لمدة حوالى ثلاث سنوات. ولكن إذا ما وضعت هذه الملابس تحت أشعة الشمس فإنه يفقد حيويته خلال بضع أسابيع. وعلى العموم فإن التطهير التام للملابس يتم باستعمال الغسيل على الناشف (البخار)، أو وضعها في إناء يغلى مع وضع منظف أو مطهر. ويعتبر فيروس TMV من أثبت الفيروسات التي تنتقل ميكانيكياً، ومع ذلك توجد فيروسات أخرى أقل منه ثباتاً، وتنتقل على سكين التقطيع التي تستخدم في قطع أو تقليم النباتات، وبهذه الطريقة ينتشر فيروس تبرقش التبويب وفيروس X البطاطس، وفيرويد الدرناات المغزلية في البطاطس وبعض فيروسات الجلايدولس.

استخدام الأصناف المنيع أو المقاومة :

بالنسبة للحيوانات الراقية فإنه يترتب على شفاء الحيوان من المرض الفيروسي ، أنه

فيروسات الغلات

يكتسب مناعة ضد العدوى بهذا الفيروس لفترة قد تطول أو تقصر، وفي هذه الحالة يشترك نوعان من الانظمة الدفاعية. في المراحل الاولى للعدوى ينشط في الخلية المصابة تمثيل البروتين ذى الوزن الجزيئى المرتفع، والذي يملك القدرة على إيقاف تضاعف الفيروس ويعرف هذا البروتين باسم انترفيرون Interferon، والذي ينتج بناء على شفرة من جينات الخلية وفي المراحل المتأخرة من العدوى يتم تمثيل وإنتاج الاجسام المضادة، وهى أجسام متخصصة ضد المسبب المرضى الذى دخل إلى الجسم. وهذه الاجسام المضادة Antibodies هى بعينها التى تؤدى إلى شفاء الحيوان، بل واكتسابه للمناعة ضد العدوى التالية بالمسبب المرضى نفسه.

ولقد اظهرت الدراسات الحديثة التى تناولت تشكيلات مختلفة من العوامل النباتية والفيروسات التى تسبب ظهور النقط الموضعية Local Lesions أنه لدى بعض النباتات القدرة على تمثيل مواد ماء لها القدرة على تثبيت قدرة الفيروس على التزايد العدوى. ويرى البعض ان هذه المواد من حيث بعض الصفات متشابهة مع الانترفيرون السابق الإشارة إليه فى الحيوانات التى تصاب بالفيروسات. إلا أنه الى الآن لم يمكن إثبات وجود خط الدفاع الثانى الذى يشابه الاجسام المضادة فى الحيوانات. وهذا ما يفسر بقاء الفيروس نشطاً فى الخلايا النباتية حتى نهاية حياة هذه النباتات على عكس الحيوانات، التى يختفى منها الفيروس بمجرد الشفاء.

ويمكن للنباتات أن تكتسب مقاومة ضد العدوى الثانية للفيروس نفسه، أو إحدى سلالاته بطريقتين، وأولى هذه الطرق قد يرجع إلى أن الفيروس يوجد فى جميع أعضاء النبات أو أغلبها، وبهذا فهو يمنع دخول أو يقاوم دخول السلالات الأخرى من هذا الفيروس، وهذا المظهر يطلق عليه Non Sterile acquired resistance - أما الطريق الثانى للمناعة أو المقاومة المكتسبة فى النباتات، فينحصر فى أنه يصاب أحد أجزاء النبات بفيروس ما إن الأجزاء سواء البعيدة أو القريبة من العضو المصاب تكتسب مناعة ضد الإصابة للفيروس نفسه، والسلالات القريبة له، وقد تكتسب مناعة أيضاً ضد فيروسات أخرى قريبة للفيروس المعدى، ويطلق على هذا المظهر اسم Sterile acquired resistance.

ولقد وجد Yarwood سنة ١٩٥١ وسنة ١٩٦٢ المظهر التالي: إذا لقحت أوراق الفاصوليا بفيروس TMV فإنه بعد ثلاثة أيام لو أعيد تلقيح الأوراق بهذا الفيروس نفسه.. فإن النقط المحلية التي تظهر نتيجة للعدوى الثانية، تكون متباعدة عن النقط المحلية التي تكون قد ظهرت نتيجة للتلقيح الأول، وقد درس هذا النوع من المقاومة المكتسبة بواسطة Ross ومساعديه سنة ١٩٦٣ عند إصابة نباتات الدخان من صنف سمسون بواسطة فيروس TMV، وكذا عند إصابة الفاصوليا صنف بنتو بواسطة فيروس نيكروزيس الدخان . Tob necrosis. وفي التجارب التي أجريت على الدخان فإنه عند تلقيح الأوراق السفلى وبعد مضي عدة أيام أعيد تلقيح الأوراق نفسها، وكذا الأوراق العليا بالفيروس نفسه، وقد تم الحكم على المقاومة المكتسبة بصغر قطر النقط المحلية، وفي أحيان أخرى بعدد النقط الموضعية. وبالنسبة للفاصوليا تم تلقيح إحدى الورقتين الأوليتين، وبعد عدة أيام تم تلقيح الورقة المقابلة لها.

ولقد أوضح Ross أنه في منطقة قطرها ٢.١ م حول النقطة الموضعية، التي يسببها فيروس TMV على أوراق الدخان من صنف سمسون تظهر مقاومة عالية لهذا الفيروس. وقد اتسع نطاق هذه المنطقة وزادت مقاومتها في غضون الأيام الستة التالية للتلقيح، كما ظهرت أعلى مقاومة لدى النباتات التي زرعت عند درجة حرارة تتراوح بين ٢٠ - ٢٤ م، ولم تلاحظ أى مقاومة مكتسبة عند درجة حرارة ٣٠ م. كما وجد Ross أنه عند تلقيح أوراق الدخان بفيروس S البطاطس، وإعادة تلقيحها بفيروس X البطاطس، لم تظهر أى نقط محلية، ومعنى ذلك أن الإصابة بفيروس تعطى أيضاً مناعة لفيروس آخر غير قريب أو غير شقيق، إلا أن هذا النوع من المقاومة المكتسبة غير متخصص بالنسبة للفيروس، فعلى سبيل المثال المناطق المحيطة بالنقط الموضعية المتسببة عن فيروس TMV كانت مقاومة لفيروس نيكروزيس الدخان Tob Necrosis. وكذلك بالنسبة لفيروسات أخرى، إلا أنها لم تكن كذلك بالنسبة لفيروس موزايك اللفت.

وقد أولى Ross سنة ١٩٦٤ أهمية خاصة لمناطق المقاومة التي تظهر على مسافة معينة من النقط الموضعية؛ حيث إن المقاومة لم تظهر فقط في الأجزاء غير الملقحة، ولكنها ظهرت أيضاً في الأوراق الأخرى على النبات نفسه؛ حيث كان قطر النقط الموضعية في هذه الحالة

بمثل $\frac{1}{4}$ قطرها على أوراق المقارنة. إلا أن عدد النقط على أوراق الدخان من صنف سمسون الملقحة بفيروس TMV لم يتغير، ويرى Ross أن المقاومة قد اكتسبت في غضون ٣-٢ أيام، وتصل إلى الحد الأقصى في اليوم السابع، واحتفظ النبات بها لمدة ٢٠ يوماً بعد العدوى. أما الأوراق التي ظهرت بها المقاومة، فكانت خالية من الفيروس قبل بداية العدوى الثانية، إلا أنه لم يتوصل أحد حتى الآن إلى اكتساب النبات المناعة أو المقاومة المطلقة. وعند درجة حرارة ٣٠م فإنه لا يلاحظ أى أثر للمقاومة المكتسبة، كما أن هذه المقاومة لا تظهر في حالة التلف الميكانيكى أو الكيماوى الذى يؤدى إلى موت الخلايا ولا حتى في حالة الإصابة بالفيروسات التى لا تسبب ظهور نقط موضعية.

ولقد أدى تلقيح نباتات الدخان بفيروس موزايك الدخان TMV إلى إكساب النباتات مقاومة لهذا الفيروس، وكذا لفيروس نيكروزيس الدخان وبعض الفيروسات الأخرى.

كما ظهرت أيضاً مقاومة مكتسبة غير متخصصة عند ظهور نقط محلية على نباتات الفاصوليا والبسلة وقد وجد Lobstein مظهراً للمقاومة المكتسبة الجهازية في نباتات الداتورة التى لقحت بفيروس موزايك الدخان، وفي نباتات المدنة *G. globosa* الملقحة بفيروس X البطاطس، وكلاهما ظهرت عليه نقط موضعية، وفي الحالتين عند تلقيح الأوراق الأخرى قل عدد النقط المحلية بشكل ملحوظ عند تلقيحها بالفيروسات نفسها. وعند معاملة الفيروس بمستخلص هذه الأوراق انخفضت قدرتها على العدوى أيضاً بشكل ملحوظ.

ووصل روس الى خلاصة تنحصر في أن تأثير العدوى الأولى على عدد النقط المحلية (الموضعية) يظهر متأخراً ويتراوح هذا التأثير في حدود واسعة. ويرى روس أيضاً أن انخفاض عدد النقط المحلية يرجع إلى أنه على الأوراق التى اكتسبت مقاومة، يكون قطر النقط الموضعية صغيراً جداً بدرجة، لا تسمح برؤيتها أو حصرها وبالتالي يقل عددها.

ويعتقد أن ظهور المقاومة المكتسبة الجهازية يتوقف على انتشار مادة ما أو مواد في أنسجة النبات الملقح بفيروس ما. ولقد أجرى روس تجارب مكثفة لإثبات ذلك.. فقد قام بقطع العرق الوسطى للورقة العليا لنبات الدخان، وقد وجد أن أجزاء الورقة التى تلى هذا الجزء لا تظهر أى مقاومة نتيجة لتلقيح الجزء العلوى.

وسوف نتكلم فيما بعد عن العوامل الوراثية التي تحدد المقاومة والمناعة أو الحساسية، عند النباتات للعدوى فإن إدخال جينات المقاومة إلى نباتات أصناف معينة، ثم توالى إكثار النباتات المنيعه أو المقاومة بعد ذلك يعتبر من أهم وسائل مقاومة الأمراض الفيروسية، وقد عملت محاولات لهذا الغرض لمقاومة مختلف الأمراض النباتية. وعلى الرغم من أن جينات المقاومة أو المناعة يمكن إظهارها عادة وبسهولة لحد ما، إلا أنه من الصعب نقل هذه الجينات إلى نباتات الأصناف المرغوبة. وأحياناً يلاحظ أن نباتاً ما منيعاً لفيروس ما، على الرغم من أن جميع الأصناف تكون حساسة لهذا الفيروس. فعلى سبيل المثال فإن بادرات البطاطس من صنف 41956 USDA تعتبر منيعه لفيروس x البطاطس. كما أن بعض أصناف الشليك وجدت منيعه لخطر الفيروسات التي تنتقل عن طريق التربة.

ولقد توجت بعض الاعمال التي أجريت لإنتاج الأصناف المقاومة للفيروسات بنجاح كبير، فلقد كان فيروس موزايك قصب السكر من أهم الفيروسات المحددة لإنتاج هذا المحصول، حتى أمكن إنتاج الأصناف المقاومة P. O.J.، والتي على أساسها أمكن إنتاج أصناف جديدة مقاومة «Summers et al 1964»، وفي الوقت نفسه لم يتمكن Russell سنة ١٩٦٠ من الحصول على أى نبات مقاوم لفيروس اصفرار بنجر السكر من بين ١٠٠,٠٠٠ نبات قام بفحصها. ولكنه عاد مؤخراً وأعلن أنه تمكن من العثور على بعض النباتات المقاومة لهذا الفيروس من بين السلالات المتحملة Tolerant من هذا المحصول سنة ١٩٦٦.

وأحياناً ما تظهر المقاومة الحقلية Field resistance على بعض الأصناف ذات الحساسية المفرطة للعدوى Hypersensitive؛ حيث فى هذه الحالة تظهر على النباتات نقط محلية Local Lesions، ولكن العدوى الجهازية لا تظهر. فعلى سبيل المثال وجد أن بعض السلالات من نباتات الدخان *N. tabacum* تعطى نقطاً محلية عند عداها بفيروس موزايك الدخان، ويعتبر هذا هو التفاعل المميز لهذا الفيروس مع *N. glutinosa* كما نعرف. ويجب أن نشير إلى أن المقاومة الحقلية فى هذا أو ذاك من المحاصيل، من الممكن أن تتسبب عن مروت النباتات الفردية التى تصاب بالفيروس، وينتج عن ذلك استبعاد مصدر العدوى داخل الحقل.

وإذا تعذر إيجاد الأصناف المقاومة أو المنية لهذا الفيروس أو ذلك من بين العوائل النباتية، فإنه فى هذه الحالة يلجأ الباحثون إلى البحث عن الأصناف المتحملة *Tolerant* لفيروسات معينة، وقد أمكن التوصل إلى أكثر من ٣٠ نوعاً من النباتات المزروعة، والتي تعتبر متحملة لفيروسات محددة. إلا أنه يجب أن يكون معروفاً أن اللجوء إلى مثل هذه الأصناف يعطى نتائج أقل بكثير من النتائج المطلوبة لحل المشكلة أو المقاومة من تلك النباتات، التي تملك جينات المقاومة أو المناعة، وهناك عدة أسباب لذلك، منها:

١ - أن قابلية الأصناف المتحملة للعدوى يجعلها مصدراً للعدوى، ينتقل منه الفيروس إلى النباتات الأخرى الحساسة، ولذلك فإن الجمع بين العوائل المتحملة والحساسة لفيروس فى منطقة واحدة يسهل انتشار الفيروس فى المنطقة، ويعطى نتائج غير مرغوبة.

٢ - الانتشار الواسع للفيروس بين النباتات أثناء الموسم يؤدي إلى زيادة عدد النباتات المصابة بالفيروس؛ مما يجعل من السهل ظهور سلالات من الفيروس تلغى تأثير التحمل.

٣ - تؤدي العدوى الفيروسية إلى زيادة حساسية النباتات للإصابة بالفطريات، ومع ذلك فإن الأصناف المتحملة تعطى محصولاً أكبر إذا ما قورنت بالأصناف الحساسة فى حالة ما إذا كانت الإصابة الفيروسية تؤدي إلى خسائر كبيرة فى الظروف العادية، وإذا ما وجد بين النباتات كثير من مصادر العدوى التي يصعب إزالتها. كما يمكن استخدام الأصناف المتحملة بنجاح إذا ما كان المحصول من بين المحاصيل الحولية مع استخدام تقاوى خالية من الفيروس عند الزراعة. فعلى سبيل المثال تعتمد زراعة بنجر السكر فى كاليفورنيا على استخدام الأصناف المتحملة لفيروس تجعد القمة. كما تستخدم بنجاح أصناف الشعير المقاومة لفيروس التقزم الأصفر، وكذا تستخدم أصناف القطن الأكثر تحملاً لفيروس تجعد الأوراق.

وتتوقف حالة بعض الأصناف فى الحقل على ما إذا كانت هذه أو تلك من الأصناف التي تعتبر جاذبة أو غير جاذبة للحشرات الناقلة. فإذا ما زرعت أصناف مختلفة من محصول ما

فى ظروف متشابهة توجد بها نسبة إصابة مختلفة بفيروس ما، فقد يكون ذلك راجعاً الى أن بعض تلك الأصناف يكون أكثر جذباً للحشرات من غيرها. ولذلك فإنه تحت ظروف الحقل لا يمكن التمييز ما بين الأصناف من حيث هل أن الصنف مقاوم أو حساس للفيروس، أو أنه أقل أو أكثر جذباً للحشرات الناقلة.

وتنحصر الصعوبة الأساسية فى إنتاج الأصناف المقاومة للفيروسات فى إمكان ظهور سلالات جديدة من الفيروس، أو حتى الناقل الحشرى الذى تعتبر هذه الأصناف حساسة له. ويرى Giddings سنة ١٩٤٧ أن أصناف بنجر السكر التى كانت سابقاً مقاومة لفيروس تجعد القمة Curly top فقدت هذه الصفة بعد ذلك.

كما أن الأصناف المقاومة أو ذات الحساسية المفرطة لفيروس ما فى منطقة ما من الممكن أن تكون حساسة لسلالات أخرى من هذا الفيروس تنتشر فى مناطق أخرى، ولقد وجد Hutton سنة ١٩٤٨ أن بعض سلالات البطاطس كانت ذات حساسية مفرطة؛ أى تعطى نقطاً محلية لفيروس X المنتشر فى أستراليا، وعندما نقلت إلى إنجلترا فقدت هذه الخاصية.

ويعتقد أن جين M الذى اكتشف فى نباتات الفلفل يحمى هذا المحصول من الإصابة الجهازية بجميع سلالات فيروس موزايك الدخان، إلا أن Greenleaf et al. سنة ١٩٦٤ وجد أن إحدى سلالات فيروس موزايك الدخان تصيب هذا أو تلك من أصناف الفلفل، إصابة جهازية مع أنها تحمل هذا الجين.

كما تزداد الصعوبة عند انتخاب الأصناف المقاومة إذا ما كان الانتخاب يستهدف سلالات عديدة وليس سلالة واحدة، وكذلك ضد فيروسات عديدة وليس فيروساً واحداً.

وتظهر مشكلة السلالات الفيروسية فى عملية انتخاب الأصناف المقاومة فى التجارب التى قام بإجرائها Rast سنة ١٩٦٧، فقد قام بعدوى ٣٠ سلالة من نباتات *Lycopersicum purvianum* بأكثر من ٦٤ عزلة مختلفة من فيروس موزايك الدخان، وقد كانت هذه العزلات مأخوذة من هذه أو تلك من سلالات فيروس موزايك الدخان، على أساس أعراضها على الدخان و الطماطم؛ إذ اختلفت هذه العزلات فيما بينها من حيث إصابتها لسلالات

النبات المذكورة، والتي كانت حساسة لها جميعاً؛ فقد كانت كل سلالة نباتية حساسة لواحدة على الأقل من هذه العزلات.

ولهذا فإنه في حالة زراعة الصنف الذى يعتبر مقاوماً لفيروس ما، فإنه يجب أن يراعى عند زراعته استخدام الوسائل التى تمنع اجتماع النباتات والفيروس، أو تقليل ذلك إلى أدنى حد ممكن، فلقد ذكر Dawson سنة ١٩٦٧ أنه عند زراعة أصناف الطماطم المقاومة لفيروس موزايك الدخان.. فإن الفيروس يظل لعدة أسابيع قادراً على الانتشار خلال النبات جهازياً، ووجد فيها بتركيزات ضئيلة جداً، ومع ذلك فلقد وجد أن العصير المستخلص من هذه النباتات المقاومة يعتبر أشد قدرة على عدوى النباتات المقاومة السليمة أكثر من العصير المستخلص من النباتات الحساسة، كما أظهرت النباتات المقاومة أعراضاً عند إصابتها بواسطة هذا العصير.

استخدام السلالات الضعيفة من الفيروس:

فى بعض الأحيان تؤدي إصابة النباتات بالسلالات الضعيفة من فيروس ما إلى منع إصابة هذه النباتات بأشد سلالات هذا الفيروس، ولذا فقد اقترح بعض الباحثين عدوى النباتات بالسلالات الضعيفة كإحدى وسائل مقاومة الإصابة بالسلالات الفيروسية الشديدة، والتي تحدث خسائر كبيرة، إلا أن هذه الوسيلة لا يمكن استخدامها إلا في حالات الإصابة الشديدة، ولا يمكن النصيح باستخدام هذه الطريقة في الظروف التطبيقية لعدة أسباب، منها:

١ - هذه السلالات التي تعتبر ضعيفة تؤدي هي الأخرى إلى خفض في المحصول، يتراوح بين ١٠-٥ ٪.

٢ - العدوى الصناعية للنباتات تجعل منها مصدراً، تنتقل منه العدوى إلى المحاصيل المجاورة التي قد تكون حساسة لهذه السلالات، وتحدث بها خسائر كبيرة، خصوصاً إذا كان الفيروس ذا مدى عوائلي واسع.

٣ - من الممكن أن تتغير السلالة في بعض النباتات، وتتحول إلى سلالة شديدة.

٤ - قد تزيد العدوى بالسلالات الضعيفة من حساسية النباتات للإصابة بفيروسات أخرى شديدة، وفي هذه الحالة تؤدي الإصابة المشتركة بأكثر من فيروس إلى خسائر جسيمة في المحصول. ويعتقد Broadbent أنه حيث إن العدوى المتأخرة للطماطم في الصوبة بفيروس موزايك الدخان تؤدي إلى خفض كبير في نوعية الطماطم وقيمتها التجارية، إذا ما قورنت بالإصابة المبكرة، ولذا فإنه يرى أنه في حالة المزارع التي يظهر بها ذلك باستمرار من الممكن عدوى النباتات بالسلالات الضعيفة، ومع ذلك فالتعشور على ما يسمى بالسلالات الضعيفة من فيروس موزايك الدخان يعتبر عملية غاية في الصعوبة.

استخدام المواد المضادة للفيروسات Antiviral Preparations :

لقد بذلت جهود كبيرة للعثور على تلك المواد المثبطة التي إما أنها تمنع الإصابة أو تعوق تزايد الفيروس عددياً إذا ما حدثت الإصابة؛ أى تلك المواد التي تؤثر على الفيروس تأثيراً مباشراً مثلما تفعل المبيدات الفطرية في حالة الفطريات الممرضة للنباتات، وقد سبق أن ذكرنا أنواع المركبات وناقشنا تأثيرها، وتنعصر العقبات الأساسية في البحث عن هذه المثبطات فيما يلي :

١ - إن المادة المثبطة لابد إما أنها تمنع حدوث الإصابة، أو تمنع تضاعف الفيروس عددياً مع عدم إحداث أى ضرر للنبات نفسه، ويعتبر ذلك أهم عقبة، لأن تزايد الفيروس عددياً يرتبط ارتباطاً وثيقاً بالعمليات الحيوية، التي تتم في الخلية النباتية؛ مما يجعل من الممكن جداً أن أى مادة تمنع تكاثر الفيروس تؤدي بالتالى إلى الإضرار بالنبات. والحالة الوحيدة التي تخص الفيروس هي عملية تزايد الـ RNA، ولذلك فإذا وجدت تلك المثبطات التي تعوق هذه العملية وحدها دون أن تؤثر على العمليات الأخرى داخل الخلية، فمن الممكن أن تكون ذات فائدة في مقاومة الإصابة الفيروسية، ومن المعروف أن 2-Thiouracil له القدرة على منع تمثيل حمض الـ RNA الفيروسي، إلا أن له مع الأسف أضراراً أخرى جانبية.

٢ - ولمنع الإصابة التي تتم بواسطة الحشرات.. فإن المواد المضادة للفيروس، لكي تكون فعالة لابد أن يكون سارياً في أوعية النبات، وقد سبق أن ذكرنا أن المواد التي تعامل بها

الأوراق فقط تؤثر تأثيراً جزئياً ضد الفيروس أو الفيروسات التي تنتقل ميكانيكياً مثل فيروس موزايك الدخان .

٣ - المادة أو التحضير السارى فى العصارة لابد أن يظل فعالاً لفترة طويلة نسبياً؛ لأن الاستخدام المتكرر لمثل هذه المواد يجعلها غير اقتصادية، كما أن الكثير من المواد التي يعرف لها تأثير مضاد للفيروس، تفقد هذه الخاصية داخل النبات .

٤ - كما لابد أن يكون من الممكن إنتاج مثل هذه المواد على نطاق تجارى واسع وأن يكون رخيص الثمن، ويتوقف ذلك بالطبع على المحصول وعلى الفيروس، وإلا فإنه لن يمكن استخدامه حتى فى حالة المحاصيل ذات القيمة العالية، والتي تزرع فى الصوب .

٥ - وحتى يمكن استخدام المستحضرات المانعة للفيروس على محاصيل كثيرة، فلا بد أن يكون مستوفياً لمتطلبات الأمان الصحى بالنسبة للمحاصيل، التي تستخدم فى غذاء الإنسان والحيوان، ولقد ظهر أن كثيراً من المواد التي أظهرت تأثيراً ضد الفيروس غير مجدية لأن لها تأثيرات ضارة على صحة الإنسان والحيوان .

وفى الوقت الحالى يرى الباحثون أن محاولة مقاومة الفيروس بواسطة المبيدات الحشرية الجهازية لمقاومة الناقلات أفضل بكثير من المواد، التي تؤثر على الفيروس تأثيراً مباشراً داخل النبات .

انتشار الفيروسات ومقاومتها فى الصوب والبيوت المحمية :

تنتقل الفيروسات بطرق مختلفة - وتحدد طريقة الانتقال الانتشار الطبيعى للفيروس ومعرفة كيف يوجد المرض تجريبياً . وفى الطبيعة تنتشر الفيروسات بالتلامس أو بالنقل بالعصير الذى يعرف بالنقل الميكانيكى، وكذلك بواسطة البذور والنواقل مثل المن والترس والنطاطات وبواسطة الفطر والنيماطودا والحامول . وتعتبر النواقل خاصة للن مهمة جداً بالنسبة لانتشار الفيروسات فى الطبيعة .

إن التلوث بالفيروسات يوجد فى الصوبة كما يوجد فى الحقل . وحتى فى الصوبة التي تختبر دائماً بواسطة الاختصاصيين فإن التلوث يظهر من حين لآخر . ربما نتيجة لدخول بعض

فيروسات النبات

الحشرات الملوثة مثل المن أو يعدم توفر الوسائل الصحية إذا ما كانت من الفيروسات التي تنتقل ميكانيكياً.. ولتجنب التلوث في الصورة توجد بعض القواعد التي لابد من اتباعها، وهي:

١ - لابد وأن تكون الصورة خالية من الحشرات.

٢ - فحص النباتات باستمرار لخلوها من الحشرات خاصة المن. وإذا ما وجد أى نبات مصاب بالحشرات يمكن غمره في محلول نيكوتين ١,٢٪، وللوقاية ترش النباتات بمبيد جهازى أو التندخين باستمرار، وحيث إن المن ربما يصبح مقاوماً للمركبات العضوية الفسفورية، فإنه يمكن اللجوء إلى المبيدات الحشرية الجهازية أو تجنب الرش الزائد. وحيث إن الرش بالمبيدات الجهازية يأخذ وقتاً أقل، فيمكن النصيح بالرش بمحلول نيكوتين.

٣ - بعض الفيروسات مثل TMV و PVX معدية لدرجة أن الأيدي والأدوات إذا ما لمست النباتات المصابة ثم السليمة تحدث العدوى. وحيث إن هذه الفيروسات فى العصير فيمكن أن تستمر الفيروسات الملتصقة بالأدوات وأدوات الزراعة لمدة طويلة قادرة على الإصابة؛ لذا يوصى بغسل الأيدي بالماء والصابون إذا كان من الضروري لمس النباتات المصابة. غسل الأدوات والأواني المستعملة فى استخلاص الفيروس باستمرار بواسطة الصابون أو محلول ثلاثى فوسفات الصوديوم. ووجد أن غمس الأدوات لمدة ٣٠ ثانية فى محلول مشبع من كلوريد الكالسيوم أو ٣٪ ثلاثى فوسفات الصوديوم أو مخلوط من ١٦٪ صابون أو معلق من bintonite يمنع انتقال بعض الفيروسات مثل فيروس X البطاطس. والأقل تأثيراً هو كلوريد الزئبق ١ : ١٠٠٠ أو محلول مشبع من كربونات الصوديوم.

والاحسن قليلاً هو كلوريد الكالسيوم عن ثلاثى فوسفات الصوديوم كمطهر للأدوات الملوثة بواسطة فيروس موزايك الدخان، وكذلك الغمر فى ٧٠٪ كحول إيثانول مطلق، ثم اللهب ثم الغسيل فى ماء جارٍ سريع مفيد أيضاً.

- ٤ - يراعى حمل النباتات بأيدي نظيفة غير ملوثة بالفيروس، وكذلك الأدوات ومنع التدخين في الصوبة، حيث إن موزايك الدخان ربما ينتقل خلال أعقاب السجائر.
- ٥ - تجنب التلامس بين النباتات بواسطة ترك مسافة كافية بينهما أو فصلها عن بعضها بواسطة شبك بلاستيك أو أحسن بشبك سلك. لا يفضل أن تلمس الأيدي أو خراطيم المياه النبات.
- ٦ - إذا استعملت التربة أكثر من مرة أو حتى كانت جديدة فربما تحتوى على مواد ملوثة. مثل جزيئات البطاطس الصغيرة أو ناقلات الفيروس. ربما تحتوى التربة الجديدة فيروسات التربة ونواقلها. الأصص الفخارية لابد من تعرضها للبخار، والأصص البلاستيك لابد من غسلها بالماء والصابون، أو بمخلوط من ثلاثي فوسفات الصوديوم والصابون وتشتطف بالماء.
- ٧ - يجب على العمال والعاملات ارتداء صديريات «أوفرول» نظيفة ومعقمة تستبدل يوميا.
- ٨ - تقليص الزيارات إلى البيوت المحمية «الصوب» قدر الإمكان.
- ٩ - إلزام الزوار للبيوت المحمية «الصوب» ارتداء صديريات معقمة، وغسل أيديهم قبل الوصول إلى البيوت.
- ١٠ - ضرورة توعية العاملين في البيوت المحمية والحقول بأن فيروس مثل موزايك الدخان قد ينتشر عن طريق أحذيتهم وملابسهم وأيديهم؛ لذا من الضروري تعقيمها وتنظيفها بصورة مستمرة.
- ١١ - ضرورة امتناع العاملين في البيوت المحمية عن التدخين أثناء العمل، ويجب غسل أيديهم قبل ملامسة النباتات حيث قد تكون السجائر مصدراً للفيروس. كما يجب ملاحظة عدم وضع الأدوات التي يستعملونها مثل مقص التقليم والسكين وخيوط ربط النباتات في جيوبهم، التي قد تحتوى على التبغ المنتشر من السجائر.
- ١٢ - يوصى باستعمال وإنتاج أصناف مقاومة أو متحملة ضد الفيروسات.

الباب الحادى عشر

**إنتاج نباتات خالية من الفيروس
باستخدام زراعة الأنسجة**

**Production Of Virus Free
Plants Using Tissue Culture**

إنتاج نباتات خالية من الفيروس

بأستخدام زراعة الأنسجة

Production Of Virus Free Plants Using Tissue Culture

إن التزايد العددي للفيروس عادة ما يكون مصاحبا لعمليات تمثيلية عادية في النبات، دون أن يتدخل في هذه العمليات. ومن المعروف أن هناك بعض المثبطات الفيروسية التي يكون تأثيرها ساما أيضا على بعض النباتات، وبالإضافة إلى ذلك فإنه لا يمكنها القضاء على الفيروس في كل خلايا النبات؛ حيث يعود الفيروس إلى التضاعف مرة أخرى، بعد انتهاء المعاملة، ويعود بذلك إلى تركيزه الأصلي.

كما أن قتل الناقلات الحشرية والنيماطودية قد لا يمنع انتشار الفيروسات النباتية، كما أن بعض الفيروسات تنتشر ميكانيكيا والبعض الآخر يكون محمولا على الإبر الفكية للحشرات؛ مما يعني أنها تنتقل مباشرة بعد أن تدفع الحشرة بخرطومها إلى أنسجة النبات، ومثل هذه الفيروسات لا يمكن مقاومتها باستعمال المبيدات الحشرية.

ومن حسن الحظ أن أغلب الفيروسات المعروفة لا تنتقل عن طريق البذور أي إن بذور النباتات المصابة تنتج في أغلب الأحوال نباتات سليمة، ومع ذلك فإن مثل هذه النباتات لا يعتمد عليها كلية، لأنها إذا ما أصيبت، فإن العدوى تنتقل من جيل إلى جيل عن طريق التكاثر الخضري؛ مما يجعل المحصول بعد عدة سنوات مصاباً بنسبة كبيرة قد تقرب من ١٠٠٪، خصوصا إذا ما كانت الفيروسات متخفية أي لا تظهر لها أعراض مرئية.

وفي بعض الحالات يمكن العثور على نبات أو أكثر خالٍ من الفيروس، وإذا كان المحصول مصابا بفيروسات مخفية فإنه يجب اللجوء إلى عمليات الاختبار الروتينية مثل التشخيص السيرولوجي والبيولوجي باستعمال نباتات الاختبار، وكذا الميكروسكوب الإلكتروني أما

بالنسبة لتلك المحاصيل التي تكون مصابة تماماً بالفيروسات، فإن هناك طرقاً يمكن استخدامها لتخليص مثل هذه المحاصيل من الإصابة بفيروسات معروفة، ومن هذه الطرق المعاملة الحرارية أو زراعة الانسجة الميرستيمية أو كليهما معاً.

زراعة الميرستيمات القمية Meristem - Tip Culture

لقد لاحظ Kotte & Robbins, 1922 نمو قمة الجذور على محاليل معدنية مزودة بالسكريات والاسبارجن والبيتون. واستطاع White, 1943 زراعة جذور طماطم مصابة بفيروس TMV في العمل. وبتقطيع هذه الجذور واختبار المناطق المختلفة بالحقن على عائل يعطى أعراضاً موضعية للفيروس. تأكد أن تركيز الفيروس في المناطق الامامية أقل بالمقارنة بالأجزاء القاعدية، أما قمة الجذر فلم يوجد دليل على احتوائها على الفيروس. أيضاً لاحظ Limasset & Cornuet, 1949 أن النباتات المصابة جهازياً ينخفض تركيز الفيروس بالقرب من نقطة النمو (apical meristem). وفي نقطة النمو نفسها لم يوجد الفيروس في نصف الحالات. وهذا أدى إلى أن Morel & Martin, 1952 افترضوا أنه يمكن عزل الميرستيم الطرفي (apical meristem) في النباتات المصابة جهازياً في العمل، وذلك للحصول على نباتات، خالية من الفيروس. ويتوقف نجاح العلاج على الفيروس المرغوب استئصاله، وكذا على خصائص النبات.

فمن المعروف أن العلاج الحراري يكون مفيداً في حالة الفيروسات الخيطية، وكذلك بالنسبة للأمراض المتسببة عن ميكوبلازما.. وهناك أربع مراحل للعملية العلاجية:

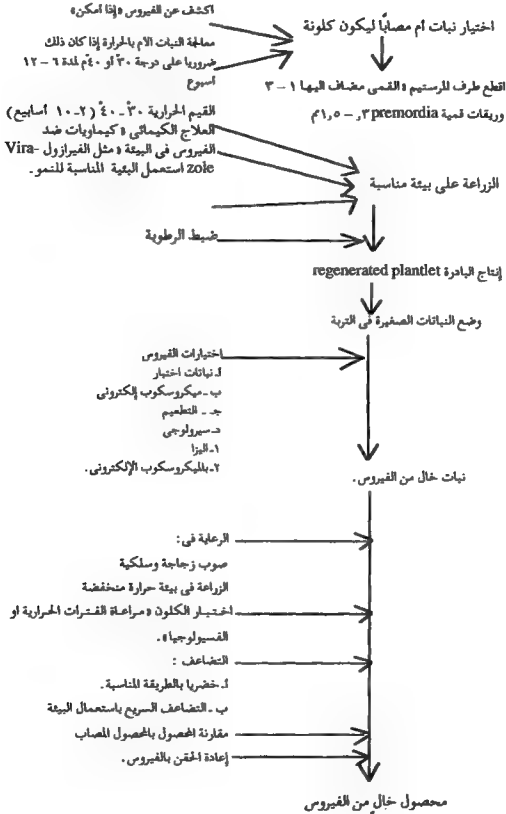
١ - تعريف الفيروس وتشخيصه.

٢ - العلاج.

٣ - اختبار النباتات المعاملة.

٤ - الإكثار مع استمرار الفحص مع العمل على عدم حدوث الإصابة ثانية، وسبق أن تحدثنا عن العلاج الحراري.

وعند استعمال اصطلاح Virus free فإنه سوف يقصد بذلك أن النبات خالٍ من الفيروسات التي تم اختياره بالنسبة لها، ومع ذلك فقد يحتوى النبات على فيروسات أخرى غير معروفة أو لم يتم اختياره بالنسبة لها. وفى الحقيقة أن كثيراً ما تكتشف الفيروسات غير المعروفة فى نباتات، تم تخليصها من الفيروسات المعروفة، ولذلك فإنه يفضل القول بأن النبات virus tested عن استعمال اصطلاح Virus free، ويجب أن يكون معروفاً أن مثل النباتات لا تكون منيعة، ولكنها قد تصاب مرة أخرى.



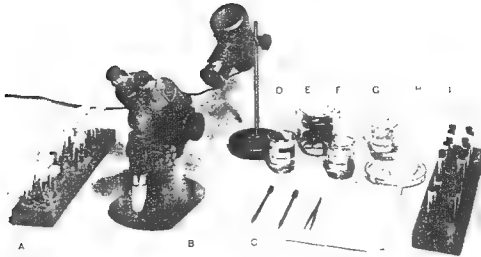
(شكل: ١١ - ١) - تخطيط يوضح إنتاج نباتات خالية من الفيروس بزرع قمة المرستيم في البيعة -

وقد نجح العلماء فى تدعيم هذه الطريقة عندما أدخلوا نبات الداليا من الفيروسات حيث وضعت بعض المرستيمات المفصولة على بيئات مغذية مختلفة، فاعطت نباتات بطول ١-٢ سم دون جذور، وبتطعيمها على بادرات صغيرة خالية من الفيروس حصلنا على نباتات سليمة. ومنذ ذلك العمل استعمل هذا التكنيك بواسطة علماء كثيرين لشفاء الاصناف المهمة المصابة فى عدد كبير من المحاصيل.

يحاط المرستيم بخلايا نشطة الانقسام أبعادها (٠.١ سم) قطراً، و (٢.٥ م) طولاً. وكقاعدة يقطع المرستيم فى كل من الفرع الرئيسى أو البراعم الإبطية، وتأخذ الاسم نفسه. تكون فرصة النمو غالباً أقل عندما تقطع من المرستيم واحد أو اثنين من منشأ الورقة (Leaf primordia)، أما القمم التى تكون حوالى (١ م) تأخذ فرصة أحسن فى النمو، ولكنها تكون أقل فى فرصة إخلاتها من الفيروس.

التكنيك والبيئة Technique and Medium :

المرستيمات سواء طرفية أو جانبية تكون محمية بواسطة الأوراق النامية أو طبقات «حراشيف» تمتد لتحميها. للتعقيم السطحى للفرع تغمر عدة ثوانٍ فى كحول ٩٦٪، ثم تغمر فى محلول من ٥٠ جم / لتر هيبوكلوريد الكالسيوم التجارى لمدة ١٠ - ٢٠ دقيقة، ثم تغسل عدة مرات فى ماء معقم. إذا لم تتوفر غرفة معقمة بجرى تقطيع المرستيمات فى معمل خالٍ من الاتربة، ومن المرغوب جداً رش المكان بالكحول قبل الاستعمال. ويحتاج بينوكلار تكبير (٢٠ - ٤٠x)، ويعقم بعد كل عزل بواسطة قماش مبلل بالكحول. بجانب البينوكلار يوضع ٦ - ١٠ قطع ورق ترشيح معقم، ٢ بيكر سعة ١٠٠ مل يملأ أحدها بالكحول والآخر بالماء المعقم (شكل ١١ - ٢). لمنع أى تلوث ميكروبى أو فيروسى، يكون من المهم وضع الإبر وأدوات التقطيع فى الكحول. يمسك الفرع باليد تحت البينوكلار ثم تفصل الأوراق غير الناضجة ومنشأ الورقة Leaf primordia بواسطة الضغط الخفيف بالإبرة بواسطة اليد الأخرى، ثم تفصل قمة المرستيم فى بعض الأنواع مثل الكرايزانثم، يكون المرستيم مفلطحاً واحتواؤه على Primordia عند القطع غير متاح.



شكل (١١-٢): الأجهزة والأدوات التي تستعمل في قطع للرستيم لزراعتها على بيضة في الأنابيب: د: ميكروسكوب $10 \times - 40 \times$ ، ولبة: ب، ورق ترشيح معقم، وعليه إبرة وسلاح مشروط وملقط: ج، إيثانول: د، براعم معقمة: هـ، ماء معقم: ف، برفلين، معقم في إيثانول: ج، قطعة قطن معقم في الإيثانول: هـ، أنابيب معقمة ومغطاة ببرلين معقم: أ.

بعد ذلك توضع العينة في بيعة مغذية في أنبوية الزراعة بواسطة قضيب النصل ببطء واحتراس. وفي البيعة السائلة تتركز المستعيمات على قنطرة من ورق الترشيح المغمور جزئياً في السائل.

تستعمل أشكال وأحجام من أنابيب الزراعة، خصوصاً الأنابيب الضيقة (قطر ١٠ مم) ويستعمل زجاج بيركس، وتغطي الأنابيب باغطية بلاستيك أو المونيوم.

كما يمكن استخدام سدادات من القطن، على أن تعقمها باللهب، ثم تغطي بالبرافين ويجب أن يكون إغلاق الأنابيب محكماً، وهذه الطريقة في غلق الأنابيب تمنع تلوثها لأنني عشر شهراً.

ويجب مراعاة ألا تحرق سدادات القطن عند تعقيمها باللهب، لأنها تكون ذات تأثير سام

في البداية وضعت البيعة المغذية بواسطة بيعة هوايت White, 1934، والتي يضاف إليها عناصر محدودة، وبعد ذلك أضيفت تحسينات عديدة للبيئات. وهناك بيعة جديدة وضعت بواسطة موراشينجى وسلوج Murashinge & Sloop, 1962 (جدول ١١ - ١)، وهى تتميز بتركيز عالٍ من أيونات البوتاسيوم والأمونيوم والـ myo - inositol، ووجدوا أن زيادة التركيزات مهمة فى حالة زراعة قمة المرستيم فى البطاطس، والتي تعطى نباتات أكثر اخضراراً وأقوى نمواً عن التي أضيفت إليها تركيزات قليلة من العناصر الكبرى. ويضاف الحديد فى أشكال مختلفة، ويبدو أن iron - Chelate كان أحسنها. وكمصدر للكربون يضاف الجلوكوز، الفركتوز أو السكرز والآخر أكثر استعمالاً. وبجانب خليط من الفيتامينات، درس تأثير أنواع من مشجعات النمو. رغم أنه من المعروف أن الاوكسين Naphthalene Acetic acid (NAA) والاوكسين 3-indole acetic acid (IAA) تنبه تكوين الجذور، ولكن استمرار استعمالها قد يثبط نمو الجذور. وعملية نقل المرستيم القمى إلى بيعة جديدة خالية من مواد النمو تكون ضرورية. وعلى العكس 1966 حفظ Nishizawa & Nishi, نبات الزنبق Lily لمدة ٢٤ ساعة.

جدول ١١ - ١: تركيب البيئات التي استخدمها مولر

(١٩٦٤) في زراعة القمم للرستيمية

1 - Major salts	١ - أملاح رئيسية	mg l
Ca (NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	كربونات كالسيوم	500
KNO ₃	نترات بوتاسيوم	125
MgSO ₄ · 7H ₂ O	كبريتات مغنسيوم	125
KH ₂ PO ₄	فوسفات بوتاسيوم	125
KCl	كلوريد البوتاسيوم	1000
(NH ₄) ₂ SO ₄	كلوريد الامونيوم	1000
Minor elemnts	عناصر صغرى:	
FeCl ₃ · 6H ₂ O	كلوريد الحديدك	1
ZnSO ₄ · 4H ₂ O	كبريتات الزنك	1
H ₃ BO ₃	حمض البوريك	1
MnSO ₄ · 4H ₂ O	كبريتات المنجنيز	0.1
CuSO ₄ · 5H ₂ O	كبريتات النحاس	0.03
AlCl ₃	كلوريد الألومنيوم	0.03
NiCl ₂ · 6H ₂ O	كلوريد النيكل	0.03
KI	يوريد البوتاسيوم	0.01
Organic constituents	مكونات عضوية (١)	
Gibberlic acid	حمض الجبريليك	0.1 mg l
Sucrose	سكر	20 g.l
Difco agar	آجار	6 g.l
2 - Organic constituents II (alternative)	٢ - مكونات عضوية	
Mg	مغنسيوم	100
Difo agar	آجاد	1
Myo - inositol	اتيوستول	1
Ca- pantothenate	باتسوثينات الكالسيوم	1
Nicotinic acid	حمض النيكوتين	1
Pyridoxine HCl	بيريدوكسين	1
Thiamine HCL	ثيامين	0.1
X- Napthalene acetic acid	نفتالين حمض الخليك	0.01
Gibberellic acid	حمض الجبريليك	20 gl
Biotin Sucrose	بيوتين - سكر	6 gl

فيروسات الذبذبات

وقد استخدم محلول 20/g/l من NAA & قبل قطع المرستيم القمى، وهكذا استفاد بتأثير الأوكسين دون التعرض لسميته.

أما تأثير حمض الجبريليك Gibberellic acid فقد وجد أن له تأثيراً خاصاً؛ حيث يمنع الانقسام غير المنتظم unorganized الذى يؤدى لتكوين الكالوس، ويشجع المرستيم على النمو السريع. وعلى العكس مثل حالة القرنفل تحت هذه الظروف تفشل الجذور فى النمو. أيضاً إذا تواجد NAA يكون من الضرورى النقل الى بيئة مشابهة خالية من حمض الجبريليك وأما السيتوكينين «Cytokinin» قد يحتاج إليه لتشجيع المرستيم الساكن على النمو، وقد يضاف أيضاً المواد heat labile بعد تعقيمها بالترشيح الدقيق.

بمجرد نمو المرستيم وإخراج جذور تنقل إلى أصص صغيرة، تحتوى خليطاً من السماد البلدى وللحفاظ على رطوبة النباتات تغطى بأوعية زجاجية. وإذا لم تتمكن من إنتاج جذور تطعم على بادرات سليمة (Wuth & Dode, 1970).

وقد تمكن Buys, 1969 من فصل نباتات القرنفل دون جذور ونقلها للتربة، ويعتقد أن الجذور النامية والخارجية من المرستيم القمى فى أنبوبة المزرعة يكون استعمالها قليلاً فى التربة.

وعندما يصل النبات للحجم المناسب يختبر لوجود الفيروس بالسيرولوجى أو الميكروميكروب الإلكترونى أو بالحقن على العوائل المشخصة. وحتى يأخذ التركيز القليل جداً من الفيروس المحتمل تواجده فى النبت الناتج الفرصة للظهور وزيادة التركيز، تصبح عملية إعادة الاختبار ضرورية.

العوامل التى تتحكم فى استئصال الفيروس:

Factors controlling Virus eradication

١- حجم المرستيم القمى: Meristem - tip size

عند استخدام تكنيك زراعة المرستيم القمى لإنتاج نباتات خالية من الفيروس لأول مرة، اعتقد الكثير من المشتغلين أن النباتات المنتجة تكون سليمة؛ لأن الفيروس لم يغزو الخلايا

المرستيمية في البرعم. وفيما بعد وجد في حالات عديدة أن هذا الاعتقاد غير صحيح، والرأى الحالي يقول بأن الفيروسات قد تغزو الخلايا المرستيمية بدرجات مختلفة تعتمد على نوع الفيروس ونوع العائل (Mori, 1977). فمثلاً فيروس PVX & TMV قد سجل غزوهما للمرستيم القمي بدرجة كبيرة عن فيروس PVY & CMV.

إن نجاح إنتاج نباتات خالية من الفيروس بواسطة زراعة المرستيم القمي يعتمد على الحجم الأولى للقمة المستعملة في الزراعة. وكما ذكر بواسطة Stone, 1968 في القرنفل المصاب بفيروسات *Latet, Vein mottle, carnation mottle*. يختلف حجم القمة من (١٠ - ٢٠ م) في القطر، وهذه القمة تتكون غالباً من قبة مرستيمية (*meristematic dome*) واثنين أو أكثر من *Leaf primordia*. عموماً يتناسب عدد النباتات الخالية من الفيروس الناتجة تناسباً عكسياً مع حجم القمة. هكذا في بعض الحالات من الممكن قطع مرستيم قمى خالٍ من الفيروس من عضو نباتى مصاب، وإعادة إنباته ليعطى نباتاً سليماً. ولكن في حالات أخرى تستاصل الفيروسات من المرستيم القمي أثناء زراعة النسيج.

في نباتات عديدة يكون من المستحيل قطع القمة بحجم صغير لتجنب الفيروس أو القضاء عليه *in Vivo* فيما بعد. وفي هذه الحالات يجب أخذ قمة كبيرة للزراعة، وهذه بالتالى تحتوى تركيزاً عالياً من الفيروس، ورغم ذلك يظل الاحتمال قائماً فى الحصول على نباتات خالية من الفيروس من هذه الأنسجة المصابة بواسطة المعاملة الحرارية أو بالكيمائيات.

لوحظ أيضاً أن إخراج الجذور قد يتأثر بحجم النسيج المزروع. فقد وجد Stone, 1963 أن قمة القرنفل الأصفر من (٢٠ م) لا تعطى جذوراً، وبينما الأكبر من (٥٠ م) تنتج نباتات محتوية على *mottle virus*. القمة التى يتراوح طولها بين (٢٠ - ٥٠ م) لها فرصة أحسن فى إنتاج نباتات خالية من الفيروس. وفى حالة *Cassava* القمم أكبر من (٢٠ م) فقط تعطى نباتات كاملة، بينما تعطى القمم الأقل من (٢٠ م) تعطى إما كالوس أو كالوس مع جذوره. فى كل أصناف *Cassava* الهندى والنيجيرى، لا يعتبر وجود *leaf primordia* أساسياً لإنتاج نباتات. ولكن فى *rhubarb* من المهم قطع القمم ذات ٢-٣ *primordial Leaves* والقمم الأصغر لا تنمو.

٢ - درجة pH البيئة :

درجة حموضة البيئة لها تأثير محدود على النمو، وعموماً تكون بين ٥.٥ - ٨.٥، ويجب الأخذ في الاعتبار انخفاض pH أثناء التعقيم بالأتوكلاف. ذكر Stone, 1963 أن المرستيمات القمية للقرنفل تنمو أحسن على pH 5.5 (حوالي ٥٩٪) عن pH 6 (حوالي ٤٪) لاحظ Mellor & Stace Smith أن درجة pH في البيئة تنخفض خلال أسبوع من ٧.٥ الى ٤.٥. يثبط إخراج الجذور عند انخفاض pH البيئة.

٣ - الضوء والحرارة والموسم :

أنابيب الزراعة المحتوية على المرستيمات القمية توضع تحت ضوء فلورسنت، ولأغلب النباتات ١٦ ساعة ضوء يومياً وحرارة حول ٢٢م تكون كافية. المرستيمات القمية في البطاطس تنمو أحسن على ٢٥م، بينما الأصيل قد تحتاج حرارة ١٢ - ١٥م. وبخصوص النسبة البلازونيوم، ذكر Pillai & Wildebrant, 68 أن فترة الإظلام ضرورية ربما لتقليل التأثير المثبط للمواد الفينولية.

أوضح عديد من الباحثين فترة تأثير الموسم على عملية زراعة المرستيم. ذكر Stone, 1963 أن بقاء مرستيم القرنفل يكون أحسن في بداية الربيع وبداية الخريف عن الشتاء والصيف. بينما ذكر Vanos, 1964 أن المرستيم القمي في القرنفل المعزول في الشتاء يخرج جذوراً بسهولة أكثر، ولكن المرستيمات المعزولة في الصيف تعطى نسبة عالية من النباتات الخالية من الفيروس.

وجد Smith - Moller & Stace 1969 أن اصناف البطاطس التي تفصل قماتها في الربيع وأول الصيف تعطى جذوراً أكثر عن التي تؤخذ متأخراً عن ذلك. في الأصيل والكورمات، أحسن النتائج حصل عليها عندما تفصل في نهاية فترة الكمون.

٤ - المعاملة الكيماوية : Chemotherapy

اقترح Quak, 1961 أن وجود الكيماويات المشجعة للنمو في بيئة الزراعة يسبب استئصال الفيروس أثناء زراعة الأنسجة. ولكن لا توجد تجارب تدعم هذا الرأي. أوضحت

التجارب التالية والتي فيها زرعت الانسجة المرستيمية المصابة بفيروس CMV على بيئات تحتوى تركيزات مختلفة من Cytokinin & auxin، أن هذه المركبات فى بعض الاحيان تخفض تركيزات الفيروس ولكنها لا تستأصله. واقترحت الدراسات الاخيرة أن إضافة كيمائيات (anti - metabolite) مثل Virazol (Ribavirin) فى بيئة الزراعة تكون أكثر كفاءة. هذه الكيمائيات فى العادة مع المعاملة الحرارية تمنع تضاعف الفيروس فى الانسجة المصابة؛ حيث يقف تخليق الفيروس، ويستمر تدهور الفيروس حتى يحدث الاستئصال. ذكر Shipard, 1977 أن Virazole استأصل PVX فى أنسجة الدخان المزروعة، وحديثاً وجد أن الفيرازول بتركيز (50 - 100 mg/1) استأصل فيروس موزايك الخيار من أنسجة *N. rustica*.

٥ - المعاملة الحرارية : Thermotherapy

فى سنة ١٨٨٩ ذكر فى جاوا أن قصب السكر الذى يعانى من مرض Sereh المتسبب عن فيروس ينمو أحسن بعد حفظه على ٥٠-٥٢°م فى الماء لمدة ٣٠ دقيقة (Kobus, 1890). وكانت تستعمل أيضاً ضد فرض تقزيم الخلفة والخلل البكتيرى فى مناطق كثيرة من العالم؛ حيث كانت عدة آلاف من الآطنان من قطع قُطب السكر، تعامل كل سنة فى حمام مائى كبير قبل زراعتها.

وفى سنة ١٩٣٦ وجد Kunkel أن أشجار الخوخ يمكن معالجتها من الاصفرار بعد المعاملة بالماء الساخن للأشجار الساكنة على ٥٠°م لمدة ١٠ دقائق. وقد اكتشف أيضاً أن النتيجة تكون أفضل إذا غُت الأشجار لمدة ٣-٤ أسابيع فى الهواء الساخن ٣٥-٣٨°م. وفى الحقيقة المعاملة بالماء الساخن عموماً، تكون أقل ضرراً للنباتات أو الأجزاء الساكنة من النبات عن الهواء الساخن.

وكان Kassanis, 1950 أول من ذكر أن قدرة الفيروس على الإصابة والتضاعف فى النباتات على ٣٦°م لا ترتبط بدرجة الحرارة المثبطة له. فمثلاً فيروس Tomato bushy stunt له درجة حرارة مثبطة هى ٨٠°م ولكنه لا يستطيع إصابة النبات على ٣٦°م، ويستأصل من

النبات تماماً بحفظه على هذه الدرجة. قد يعزى استئصال الفيروس هكذا بالتعرض الطويل للنباتات المصابة لدرجة حرارة حول ٣٧م إلى النظام التمثيلي، الذى يغير التوازن بين تخليق الفيروس وانتهيار الفيروس فى النبات، أو إلى فشل الفيروس فى التضاعف على هذه الدرجة، وعموماً الفيروسات التى يمكن استئصالها بالحرارة هى الكروية. وهناك فيروسان غير كرويين معروفان، يمكن استئصالهما بالمعاملة الحرارية هما Plum pox virus & Apple chlorotic leaf spot.

ويلاحظ أنه ليست كل الفيروسات فى النبات لها حساسية متشابهة للمعاملة الحرارية، ولاستئصال فيروسات عديدة قد تكون عدة أسابيع مدة كافية، بينما فى فيروسات أخرى فى النبات نفسه، وتحت الظروف نفسها قد تأخذ فترة أطول كثيراً، وربما طويلة جداً عن التى تحملها النبات كما فى التفاح والقرنفل. وأيضاً سلالات الفيروس الواحد قد تختلف فى تحملها للمعاملة الحرارية.

فى بعض الحالات يوضع النبات الكامل على حرارة بين ٣٥ - ٤٠م لفترة، تتراوح بين أيام قليلة إلى عدة أشهر. هذا يستعمل أساساً فى الفراولة لأنها لا تنتج اشطاء. وفى rasp berries حيث تموت القصبات فى السنة الثانية بعد حمل الثمار، فهذا لا يمكن استعمالها فى تطعيم القمم المعاملة.

تستأصل فيروسات كثيرة من قمة الفروع المأخوذة من النباتات النامية، وتحفظ على حرارة حوالى ٣٧م لفترات مختلفة. بعد المعاملة الكافية تزرع هذه القمم، أو تطعم على بادرات خالية من الفيروس. وهذه الطريقة تستعمل بنجاح لتنقية أصناف من محاصيل مستديمة من عدد من الفيروسات؛ خصوصاً النباتات التى يسهل زراعة قمتها أو تطعيم قمتها.

على العموم يمكن القول أن المعاملة الحرارية لا تثبط الفيروس، ولكن تمنعه من غزو الفروع النامية أثناء المعاملة. ذكر Welsh & Nyland, 95 أن عدة براعم إبطية ساكنة فى عدد من الأصناف فقدت الفيروس الذى بها، ولذلك لا يستبعد حدوث تثبيط للفيروس.

زراعة المرستم بعد المعاملة الحرارية: Meristem culture after heat treatment

رغم أن البيئة تكون مناسبة لنمو المرستيمات.. فإن قليلاً منها ينمو والقليل منها يكون

خاليا من الفيروس. ولهذا فإن علماء كثيرين أجروا معاملة حرارية للمادة النباتية، ثم زراعة كمية من المرستيمات القمية منها.

ويفترض أنه خلال المعاملة الحرارية يثبط تضاعف الفيروس؛ حيث إن المعاملة الحرارية قد تعمق التمثيل الغذائي وتخفف النمو في المرستيمات، فإنه يلزم تجارب لمعرفة إلى أى مدى يمكن حفظ المرستيمات على الحرارة العالية مع استمرار نموها، بالعمل على الكرايزانثم، صنفت بلانش. وجد Hakkaart & Quak, 1964 أن المواد النباتية المعاملة بالحرارة لمدة ١٠، ٢٠، ٣٠ يوماً على الترتيب تنتج نسبة معوية من النباتات الخالية من الفيروس تزيد من ٩ حتى ٩٠ تقريباً، فى حين أن المعاملة الحرارية لمدة ٤٠، ٥٠، ٦٠ يوماً لا تغير هذه النسبة المعوية، ولكنها تخفف بوضوح عدد المرستيمات النامية. يبدو أن التأثير يختلف حسب الصنف تحت الدراسة، فبالقارنة وجد أن الصنف Migoli ينتج عدداً قليلاً من النباتات بعد ٢٠، ٣٠ يوماً من المعاملة الحرارية، والتي تكون خالية من فيروس بنسبة ١٠٠٪، ٧٠٪ على الترتيب، وكانت غير المعاملة ٩٪.

كان نمو القمم المفصولة بواسطة Vine, 1968 من نباتات الفراولة بعد وضعها أسبوع أو أكثر على ٣٥م°، ونسبة عالية منها وصلت للنضج عن الأخرى غير المعاملة، والتي كانت أيضاً خالية من Crinkle and Vein chlorosis.

عادة تطبق المعاملة الحرارية على المادة النباتية الأصل قبل قطع المرستيم القمي. وضع Walke & Cooper, 1975 المرستيم القمي المصاب من *N. rustica*، والنامية فى بيئة ساكنة أو متحركة على ٣٢م°، وبواسطة هذه الطريقة استأصل، CMV, alfalfa mosaic virus أو انخفض تركيزهما بشدة، بينما ظلت المزارع المتحركة نفسها على ٣٢م°، وربما زاد تركيزه بعض الشيء عنه على ٢م°.

يمكن القول أنه فى حالة الفيروسات الصعبة الاستئصال بواسطة زراعة المرستيم القمي، يؤخذ تطبيق المعاملة الحرارية قبل القطع فى الاعتبار. وهذه الطريقة المشتركة تكون مفضلة، عندما يكون النمو بطيئاً ونسبة النباتات الخالية من الفيروس صغيرة (مثل حالة

القرنفل). وفى هذه الحالات تكون المعاملة الحرارية المسبقة، وأيضاً قطع القمم بطول ١-٢ سم لها فرصة أحسن فى النمو والبقاء، معطية نباتات خالية من الفيروس.

تواجد الفيروس فى الأنسجة المرستيمية: *Virus in meristematic tissue*

زراعة المرستيمات القمية تهتم الباحثين فى أمراض النبات؛ نظراً لأهميتها العملية والاقتصادية. فى الخمسينيات أدى التأثير المثبط للفيروس لعدد من هرمونات النمو إلى الاعتقاد أن التركيزات العالية من الهرمونات فى المرستيمات تثبط الفيروس، وهذه النظرية لم تثبت. ذكر بعض الباحث سنة ١٩٦٥ أن تركيز الفيروس ينخفض بواسطة النمو السريع للكالوس. وأظهرت اختبارات الحقن بمستخلص خلايا كالوس الدخان التعارض بين انقسام الخلية وتضاعف الفيروس. فى الأنسجة النشطة الانقسام يغلب تخليق النيكلوبروتين الطبعى وبعدها وأثناء استطالة الخلية يكون هناك تخليق للنيكلوبروتين الفيروسي.

ودعمت هذه النظرية بملاحظات Crowley & Mamson, 1960، حيث ربطا بين طول قمة الجذور الخالية من الفيروس فى نباتات الطماطم المصابة بالفيروس بالحد الذى يحدث عنده الانقسام الميتوزى. تسبب مشبطات النمو فى البيئة تقصيراً فى منطقة الانقسام الميتوزى فى قمة الجذر، وتتحدد المنطقة الخالية من الفيروس بالحدود نفسها. ذكر Hollings & Stone, 1964 أن المرستيم القمى المفصول من نباتات القرنفل المصابة بفيروس Carnation mottle يحتوى هذا الفيروس فى تركيزات، يمكن أن تعطى البقع الموضعية فى *C. amaranticolor*، فى حين أن بعد ٣٠ ساعة على بيئة مغذية تصبح المرستيمات غير معدية، ولذلك يقترح أن التفاعل مع البيئة المغذية يمنع تواجد الفيروس فى القمة. النتائج نفسها وجدت بواسطة Walkey et al, 1969 فى المرستيم القمى فى *N.rustica* المصاب بفيروسات Cherry leaf roll أو Arabis mosaic؛ حيث فصلوا المرستيمات دون leaf primordia، وطحنوا كل مرستيم فى نقطة من فوسفوتنجستات الصوديوم، التى توضع رؤية جزيئات الفيروس الكروية. وبالميكروسكوب الإلكتروني شوهدت جسيمات فيروسية، مع أن هذه القمم المزروعة تعطى نباتات سليمة. وقد ثبت أيضاً وجود الفيروسات العصبية S, X, M فى المرستيمات القمية المفصلة من البطاطس، والتى تعطى غالباً نباتات خالية

فى الوقت الحاضر لا يوجد تفسير علمى عن حقيقة أن بعض الفيروسات دون الأخرى يمكن استئصالها بزراعة المرستيمات القمية. الاختلاف فى إمكانية استئصال الفيروسات قد يكون بسبب الاختلاف فى التأثير التثبيطى للبيئة المغذية، بالإضافة إلى الاختلاف فى درجة توزيعها فى القمة

والاحتمال المقترح أن هناك تنافساً بين تخليق الفيروس، وبين تخليق النيكلوبوتين اللازم لانقسام الخلية يبدو أنه غير صحيح. ولكن يمكن أن يعزى للتأثير المفيد للمعاملة الحرارية على استئصال الفيروسات من الأطراف، وتفسير هذه النظرية غير مفهوم تماماً ولكن هذا لا يقلل من الأهمية العملية لزراعة المرستيمات القمية.

تأثير استئصال الفيروسات : Effect of limination of viruses

إن زراعة المرستيمات القمية استعمل بواسطة عديد من العلماء للحصول على أجزاء من النباتات التى تتكاثر خضرية خالية من الفيروس. وهدف تطبيق هذا التكنيك مضاعف؛ فالنباتات الناتجة تمدنا بمادة نباتية، يمكن دراسة تأثير الفيروسات فيها، وأيضاً تشكل قاعدة للإنتاج التجارى. ويجب أن نضع فى اعتبارنا أن استئصال الفيروس لا يعطى مناعة، ويجب توقع إعادة الإصابة «الانتكاس». وأيضاً سرعة الانتكاس وطبيعة درجات المقاومة يجب أن تقدر بواسطة دراسة الوبائية للفيروسات تحت الدراسة.

مع أن عديداً من الفيروسات معروفة فى القرنفل، إلا أن Hakkart, 1964 وصف الأعراض والحسائر الحادثة بفيروسات Ring spot vein mottle & Carnation mottle فى القرنفل صنف وليام. ومع أنه لا تظهر أعراض واضحة عند الحقن الصناعى بفيروس mottle فإن نمو النباتات المصابة ينخفض بوضوح. وفيروسات Ring spot Vein mottle تعطى أعراضاً على الأوراق، وتخفف كلاً من نوعية وكمية المحصول. النباتات المصابة بالتبقع الحلقى تكون أكثر فقراً فى إنتاج الأزهار عن النباتات السليمة ويسبب فيروس Vein mottle انكسار لون الأزهار.

استحصل Stone 1973 فيروسات Narcissus degeneration, Arabis mosaic من نبات

Narcissus tazette صنف جراند سوليل بواسطة زراعة المرستيمات القمية. الاصل الخالية من الفيروس تنمو أسرع وأكثر قوة عن الأصل. الأزهار أكبر وأغنى في اللون والسيقان أكثر في النباتات السليمة عن المصابة.

وجد Walkey & Cooper, 1972 أن الأصناف التجارية من الراوند في بريطانيا تصاب بشدة بالفيروسات. ولم يتمكننا من تقدير تأثير الإصابة الفيروسية على قوة ومحصول هذه الأصناف؛ حتى أصبحت الأجزاء الخالية من الفيروس متاحة نتيجة لزراعة المرستيمات القمية. حوالى ٦٠ - ٩٠٪ حيث لوحظت زيادة في محصول البتلات مقارنة بالنباتات المصابة بالفيروس.

من الممكن في الفراولة أن تظل المادة النباتية « النواة » في الأنابيب في المعمل، وهذا يعنى أنه للحصول على الأعداد اللازمة من النباتات يجرى إكثارها في المعمل، ويلاحظ أنه إذا اشتمل ذلك على طور الكالوس يجب عدم تجاهل حدوث الطفرات.

إن إنتاج بذور القنبط يكون من أمهات مختارة بعناية، والتي تكون ناتجة من محصول متكاثر خضرى لعدة أعوام، تكون مصابة بشدة بالفيروسات، والذي قد يؤدي لخفض محصول البذور وموت النباتات؛ وباستعمال زراعة أنسجة القنبط نجح Walkey سنة ١٩٧٤ فى إنتاج نوية خالية من الفيروس.

تمكن Gippert & Schmelz, 1973 من استئصال الفيروسات من عدد من أصناف البلارجونيم باستعمال زراعة المرستيمات القمية. وعلى الرغم من أن الفيروسات لا تسبب أعراضاً على البلارجونيم، إلا أنه لوحظ أن النباتات الناتجة من المرستيم القمي كانت أقوى من العادية، وتعطى ٢٠ - ٣٠٪ حشاش أكثر، بالإضافة الى تحسن فى القدرة على تكوين الجذور، وهكذا زاد الإنتاج حوالى ٣٥٪.

إن إخلاء الأصناف المهمة اقتصادياً فى المحاصيل التى تتكاثر خضرى من الفيروسات ليست كافية للوقاية من تأثير الفيروسات. فالأصناف تظل محتفظة بقابليتها للإصابة، ومن البداية يجب أن تهدف التدابير لمنع إعادة إصابتها. هذه التدابير تتحدد من ناحية وبائية الفيروسات، ومن ناحية أخرى بالمحصول الذى يكون نامياً إما فى الحقل أو فى الصوب، وقد

يحتاج أعواماً عديدة كفترة زراعة .

فى بعض الحالات كما فى أشجار الفاكهه إعادة الإصابة بالفيروسات غير محتملة إذا كانت الجذور والاغصان خالية من الفيروس . وايضاً إذا لم تتواجد نواقل للفيروسات . وفى محاصيل مثل القرنفل والكريزانثم والفراولة والبطاطس تكون مهددة بإعادة الإصابة عن طريق الحشرات أو ميكانيكا، والتي يمكن خفضها بواسطة تدابير صحية عديدة، وفى أى حالة يجب اختبار النبات الأم « أو النواة »، جماعياً وفردياً لتواجد الفيروس . وهكذا يمكن اكتشاف إعادة الإصابة فى الحال .

ومن الواضح إن إعادة الإصابة لا تحدث فى النباتات الخالية من الفيروس، والتي نتجت من زراعة المرستيمات القمية، وظلت باقية فى الانابيب وبهذا اقترح Boxus, 1974 .

التسجيل - حفظ الأصول والمحصول : Indexing, Stock maintenance and yield

بمجرد تدعيم النباتات المنتجة فى الثرية، يكون من الضرورى التأكد من خلوها من الفيروس . وحيث تظهران بعض الفيروسات تظهر متأخرة، فإن اختبار الفيروس يجب أن يجرى مرات عديدة أثناء السنة الأولى بعد الزراعة، وذلك قبل أن يستخدم النبات كمصدر . بالإضافة إلى أن هذه الاختبارات يجب أن تجرى على أمهات النباتات الخالية من الفيروس الباقية كمصدر .

تعتمد طريقة اختبار الفيروس على الصنف النباتى والتسهيلات المتاحة . فى الماضى كان يستخدم التطعيم والفحص بالميكروسكوب الإلكتروني للورقة والعصير النباتى، والنقل بالعصير إلى العائل القابل للإصابة، والاختبارات السيولوجية المختلفة . . . كوسائل للاختبار . وحديثاً حيث تستخدم ELIZA والفحص بالميكروسكوب الإلكتروني للسيولوجى توفرت طرق عالية الحساسية .

فى الماضى كانت النباتات المنتجة وكذلك اختبارات الخلو من الفيروس، توضع عموماً فى تجهيزات مانعة للحشرات . وذكرت الدراسات الحديثة أن الأمهات الخالية من الفيروس يمكن تخزينها لآوقات طويلة بواسطة وضع الانسجة المزروعة والمعقمة على درجات حرارة منخفضة

(Mullin & Schlegel, 1976)، وهذا التكنيك يكون أقل تكلفة واستهلاكاً للوقت .

ظهرت دلائل كثيرة على أن النباتات الناتجة من قمة المرستيم عادة تظهر قليلاً أو لا تظهر اختلافات وراثية عن النباتات الأصل . ومن الضروري اكتشاف أى تغيرات طفيفة فى الصفات الزراعية للنباتات الناتجة، فمثلاً الملاحظات السابقة أكدت أن تغيرات فسيولوجية قليلة قد تحدث كنتيجة لغياب الفيروس؛ ففى التفاح حدثت تغيرات قليلة فى لون الثمرة ووقت التزهير والأثمار، وفى الراوند سجلت تغيرات كبيرة فى كمية الحرارة المنخفضة اللازمة لكسر السكون (Case, 1973)، وبالتالى يجب أن يوضع فى الاعتبار اختيار الأجزاء المناسبة من ناحية الصفات الزراعية .

بمجرد اختبار الام المناسبة وتكاثر النبات للإنتاج التجارى، يكون من الضرورى إجراء الاختبارات الحقلية لقياس المحصول الخالى من الفيروس كمأ ونوعاً، بالإضافة إلى أنه من المهم إجراء هذه التجارب لقياس معدل انتكاس الإصابة بالفيروس فى المناطق المختلفة . يتأثر معدل الانتكاس بوبائية الفيروس، تحت الدراسة ودرجة عزل المحصول السليم . وعموماً يمكن القول أن الفيروسات المحمولة بالملن تكون أول ما ينتكس، خصوصاً إذا زرع المحصول السليم بجانب مصدر للفيروس .

إنتاج البطاطس الخالية من الفيروس بواسطة زراعة الأنسجة :

Production of Virus - free Potatoes by tissue culture

١ - مقدمة : Introduction

أ - نبذة تاريخية : Historical

تعتبر البطاطس *Solanum tuberosum* واحدة من أهم محاصيل الغذاء العالمية خصوصاً فى المناطق الشمالية الباردة من العالم . سنة ١٩٣٣ سجل أكثر من ٦٠٠ صنف، وهى فى ازدياد عاماً بعد عام . وكثيراً ما تختفى أصناف عديدة تكون مرغوبة وذات إنتاج عالٍ لتدهورها تدريجياً فى القوة وكمية المحصول، قبل أن نكتشف أن هذا التدهور نتيجة الإصابة بفيروس أو أكثر . وعندما تسبب هذه أعراضاً مرئية يمكن أن نكتشفها،

ولكن الفيروسات الأخرى غير المظهرة للأعراض Symptomless تكون صعبة التشخيص والمقاومة. وبعد زيادة المعلومات عن فيروسات البطاطس تحسنت طرق الكشف عنها كثيراً، وأمكن معرفة أن كل الأصناف المهمة مصابة بواحد أو أكثر من الفيروسات المعتدلة أو الكامنة.

ب- خسائر المرض : Disease losses

بعد الحصول على البطاطس الخالية من الفيروس، أجريت التجارب لتقدير الفقد في المحصول الناتج عن الإصابة بكل فيروس على حدة. وكانت النتائج متغيرة، فكل صنف يختلف في حساسيته تجاه فيروس معين، وكذلك تضم الفيروسات لسلاسل تختلف في شدتها.

ذكر Norris, 1953 أن الإصابة بفيروس PVX تسبب خسائر في المحصول، تتراوح بين ٥ - ٧٥٪ حسب سلالة الفيروس - والصنف - وعوامل أخرى، أهمها تواجد فيروسات أخرى كامنة ومختلطة مع PVX. مثل فيروس PVS وهو أحد الفيروسات التي لم تكتشف، حتى سنة ١٩٥١ عندما سجل في هولندا، ووجد أنه واسع الانتشار حيثما توجد البطاطس، ولا يوجد شك في وجوده غير مشخص في عديد من الأصناف المستعملة، وفيروسات أخرى عديد تؤثر في المحصول تشمل PVA, PVY.

تبعا لذلك استعملت تقنية زراعة الأنسجة لإنتاج نباتات خالية من الفيروس في صنف كنج إدوارد، وتم مضاعفة الـ Clone الناتج ومقارنته بالعشائر المصابة بفيروس PVM، فوجد أن العشائر الخالية من الفيروس أنتجت نباتات قوية، ومحصولاً أكثر بنسبة ١٠٪ (Bawden & Kassanis, 1965) إلا أن التأثير المفيد لاستئصال الفيروس قد يقابله جزئياً زيادة القابلية للإصابة بالفطريات؛ فقد ذكر Muller & Munro, 1951 أن البطاطس الخالية من PVX و PVY عالية القابلية للإصابة للفطر *Phytophthora infestans*. كما وجد أن الدرنات الخالية من فيروس PVX إذا قتلت عرشها، وتركزت ٢-٣ أسابيع في الأرض تكون أكثر قابلية للعدن الجاف *Fusarium* عن الدرنات المصابة بفيروس PVX، بينما التي حصدت بعد ٤ - ٥

أسابيع من قتل عرشها لم يلاحظ تغير في قابليتها للإصابة. ومن هذه الملاحظات يعتقد أن الإصابة بالفيروس تغير الحالة الغذائية والفسيولوجية في نبات البطاطس.

والإصابة بفيروس PVS, PVX عادة لا تظهر أعراضاً على البطاطس، وتسبب خسائر مؤثرة في المحصول، وإنه بإجراء زراعة الانسجة يمكن استئصال كل سلالات هذين الفيروسين. وأكثر من ذلك أن العشائر Clones الناتجة من زراعة المرستيم تكون خالية أيضاً من البكتريا والفطريات الممرضة.

جـ - طرق الاستئصال : Methods of Eradication

إن زراعة أنسجة براعم البطاطس كطريقة للحصول على نباتات خالية من الفيروس من أمهات مصابة، طورت لدرجة أصبح النجاح معها مضموناً. تستعمل ثلاث طرق في محاولة عزل الانسجة الخالية من الفيروس التي يعاد زراعتها لتعطي جذوراً. الأولى تعتمد على ملاحظة أن تركيز الفيروس ينخفض في الأجزاء الخضرية الحديثة عن القديمة في النباتات المصابة، وبواسطة عزل المرستيم القمي أو قمة الجذر من النباتات المصابة وتنميتها على بيئة مغذية، أمكن الحصول على أنسجة خالية من الفيروس، ولكن هذه ليست دائماً تعطي نباتات ذات جذور. والثانية باستعمال antimetabolites سواء بتطبيقها على النبات المصاب قبل فصل الدعم أو بإضافتها للبيئة المغذية ونلاحظ أن بعض ال antimetabolites تخفض تركيز الفيروس، دون أن تضر أنسجة النبات، والثالثة هي تعريض النبات المصاب لحرارة قرب 37°م، والتي تخفض أو تثبط تضاعف بعض الفيروسات. والمرستيمات القمية المفصولة من النباتات المعاملة بالحرارة تكون غالباً خالية من الفيروسات، التي ليست من السهل استئصالها بزراعة المرستيمات وحدها.

٢ - زراعة المرستيم : Meristem

أ - أنسجة الزراعة : Tissues for culturing

عادة تختار لزراعة الانسجة البراعم المرستيمية من طرف الساق أو عيون الدرناات أو إبط

الورقة. وتكون الاسبقية للفرع الابتدائي الذى تكشف، وذلك لانه يحتاج فقط للاستطالة وإخراج الجذور فقط. وقد يكون لزراعة الانسجة الاخرى قيمة عملية قليلة، ولكن يجب معرفة اى جزء من نبات البطاطس لازماً لإنتاج نبات كامل.

اكتشف Bajaz & Dionne, 1966 إمكانية الحصول على نباتات خالية من PVX بزراعة جذور البطاطس، وتمكننا من تنمية ثلاث مزارع للجذور خالية من PVX، ونجحنا سنة ١٩٦٨ فى إنتاج تركيبات تشبه العقد على الجذور المنزوعة. وهذه التركيبات تميل للاخضرار ولكنها لا تنمو لتعطى افرعاً.

لا تستعمل انسجة الدرنات كمصدر للنبات الخالى من الفيروس، على الرغم من أنه درس نمو وتكشف الانسجة البرانشيمية للدرنات.

وقد وجد Okazawa وزملائه سنة ١٩٦٧ أن الأوكسين ضرورى لبداية تكوين الكالوس والكينتين Kinetin لاستمرار النمو والتكشف. عند زراعة قرص من انسجة الدرنات 16 X 10 mm ينتج نبتة صغيرة جداً على سطح القرص. أعاد Anstis & Northcote, 73 زراعة قطع من الكالوس الناتج من انسجة الدرنات ولكن لم تتكون الفروع، على الرغم من تكون الجذور على أحد الكالوسات.

وحتى الآن تجرى تجارب عديدة على السوق - الدرنات - الجذور و انسجة البطاطس الاخرى لاكتشاف ظاهرة النمو بالكالوس، والتي تحتاج لتكشف افرع ذات جذور لتصبح ذات اهمية عملية. والدراسات العديدة على تكشف الانسجة أظهرت أنه، على الرغم من المجهود الكبير إلا أنه لازالت هناك مشاكل عديدة دون حل، ويبدو أن استعمال الانسجة له قيمة ضعيفة عن استعمال المرستيمات فى استئصال الفيروسات.

ب- بيئة الزراعة: Culture media

تؤدى زيادة تركيزات العناصر الصغرى فى البيئة المغذية إلى زيادة نجاح نمو المرستيمات المفصولة لنباتات ذات جذور (جدول ١١ - ٢) يوضح المعادن المستخدمة فى بيئة

البطاطس، وفي عام ١٩٦٤ تمكن Morel & Muller من تحسين البيعة السابقة لهما (سنة ١٩٩٥) بالزيادة الكبيرة لكمية البوتاسيوم وإضافة سلفات الامونيوم وحمض الجبريليك (GA_3). وضع Murashige & Skoog, 1962 البيعة (MS- 62)، والتي تتميز بزيادة الامونيوم والبوتاسيوم، وتستمر وقتاً أطول أربعة أضعاف بيعة النيترات. وبمقارنتها ببيعات عديدة وضعت بواسطة Muth & Bode, 70, Stace - Smith & Mellor, 68 Christensen, 70, Topio, 72 وجد أن أحسنها هي (MS- 62). العناصر الصغرى (الدقيقة) التي عادة تستعمل في المزارع. يضاف الحديد عادة في شكل - Fe ethylenediaminetetra acetic acid (Fe - EDTA) أكثر من صورة كلوريد الحديد أو السلفات. ذكر Shige & Skoog, 1962 أن العامل المخلبي (EDTA) يحسن كثيراً من قابلية الحديد للامتصاص وأيضا العناصر الصغرى الأخرى.

جدول ١١ - ٢: العناصر المغذية المعدنية التي استعملت في بيئات

عديدة لزراعة القمم البرستمية للبطاطس.

	WHITE, 1954 (MANZER, 1958)	HELLER, 1953 (GAUTHERET, 1959)	MOREL and MARTIN, 1955 (PALUDAN, 1971)	MOREL and MULLER, 1962	MURASHIGE and SKOOG, 1962
العناصر الكبرى Macronutrients:					
نترات الكالسيوم $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	288		500	500	
نترات بوتاسيوم KNO_3	80		125		1900
نترات صوديوم NaNO_3		600			
نترات الأمونيوم NH_4NO_3					1650
كبريتات الأمونيوم $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$				1000	
كلوريد بوتاسيوم KCl	65	750		1000	
فوسفات بوتاسيوم KH_2PO_4			125	125	170
فوسفات الصوديوم $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	19	125			
كلوريد الكالسيوم $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$		75			440
كبريتات المغنسيوم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	737	250	125	125	370
كبريتات الصوديوم Na_2SO_4	200				
العناصر الصغرى Micronutrients:					
كلوريد الحديدك $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$		1		1	
كبريتات الحديدك $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	2.5		25		
كبريتات الحديدك $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$					27.8
Na_2EDTA					37.3
كبريتات المنجنيز $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	6.7	0.1	0.8	0.1	22.3
حمض البوريك H_3BO_3	1.5	1	0.025	1	6.2
كبريتات الزنك $\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2.2	0.8	0.04	0.8	8.6
يوديد البوتاسيوم KI	0.75	0.01	0.25	0.01	0.83
مولبيدات الصوديوم $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$					0.25
كبريتات النحاس $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$		0.03	0.025	0.03	0.025
كلوريد الألومنيوم AlCl_3		0.03		0.03	
كلوريد النيكل $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$		0.03	0.025	0.03	
كلوريد الكوبالت $\text{CoCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$			0.025		0.025

المضافات العضوية فى بعض البيئات موضحة فى جدول (١١ - ٣). اكتشاف الاحتياجات من المواد العضوية لزراعة الانسجة صعب جداً، فبعضها يعتمد على الآخر فمثلاً نحتاج لزيادة مادة ما عند إضافة مادة أخرى. ويعتمد الاحتياج لمواد أخرى على المغذيات المتاحة فى محلول المعادن أو على نوع وعمر الانسجة المعزولة. وبالإضافة للمواد العضوية الموجودة فى جدول (١١ - ٣) يستعمل بعض الباحثين GA_3 . وقد وجد Mellor & Stace - smith, 69 أن GA_3 ليس له تأثير كبير على النمو، وقد حذف من البيئة الأخيرة لهما.

فى بعض الأصناف تعطى البراعم المفصولة كلها تقريباً نباتات، وفى أصناف أخرى تعطى نباتات قليلة جداً، والتي قد يتحسن نموها بإضافة GA_3 . وجد Pannazio & Re-dolfi, 1973 أن إنتاج الجذور فى المرستيمات على البيئة 62 - MS السائلة دون إضافة GA_3 كان ١٧٪، وبإضافة GA_3 زادت إلى ٦٦٪. وقد اقترحا أن الاختلاف بين نتائجهم والنتائج السابقة يكون بسبب اختلاف فترات الإضاءة - الموسم - الأصناف - عمر النبات الأم أو نقاوة الكيماويات، ويضاف احتمال آخر هو النقل الدورى للبراعم النامية إلى بيئة طازجة. كما وجد أن إضافة الفحم النشط إلى 62 - MS تسرع من نمو البراعم المفصولة، وتزيد عدد النباتات ذات الجذور، ويكون مفيداً خصوصاً للأصناف التى لا تعطى جذوراً على بيئة 62 - MS.

وقد تدعم بيئة الزراعة ٥ - ٨ ٪ آجار. وأحسن التجهيزات لزراعة المرستيم عبارة عن أنبوبة اختبار (12 X 100 mm) ويغلاء مقاوم للحرارة مصمم، بحيث يسمح بتغير الهواء فى الأنبوبة. وفى البيئات السائلة تدعم بقنطرة من ورق الترشيح، ولكنها غير ضرورية.

جدول (١١ - ٣) : الإضافات المغذية (مجم / ل) للبيئات المستخدمة
في مزارع القمم البرستيمية للبطاطس .

	WHIE, 1954 (MANZER, 1958)	MOREL and MARTIN, 1955 (PALUDAN, 1971)	MURASHIGE and SKOOG, 1962
بيوتين Biotin		0.001	
كالسيوم بانتوثينات Ca- Pantothenate		0.001	
ستيسين Cysteine		0.01	
جليسين Glycine	30		
قندول ٣ حمض الخليك Indol - 3 - acetic acid			
اينوسيتول Inositol		0.001	2.0
كينيتين Kinetin			1-30
نفتالين استيك Naphthaleneacetic acid		0.001	100
نيكوتينيك أسيد Nicotinic acid	0.5		0.04-10
بيريدوكسين HCl Pyridoxine. HCl	0.1		0.5
تيامين Thiamine. HCl	0.1	0.001	0.5
جلوكوز Glucose		40000	0.1
سكروز Sucrose	20000		30000

ج - عوامل التكتشف وتكوين الجذور :

Factors in development and rooting

١ - حجم البرعم المفضل : Size of excised bud

لوحظ أن حجم المرستيم المقصول يؤثر على تكوين الجذور، ولكن وجود Leaf primordia يؤثر أكثر في التكتشف . باستعمال مرستيم بطول (١ ، ٠ م) وجد Kassanis & Varma, 1967 أن النتائج كانت أحسن كثيراً عندما يشتمل على Leaf Primordia.

وجد Stace - Smith & Meller, 68 أن البرعم بطول ١ مم أو أكثر يكون جذوراً أكثر من البراعم الأصغر. إن حجم البرعم يؤثر أيضاً على استئصال الفيروسات خصوصاً PVS. وعادة ترفض البراعم أقل من ٣ مم؛ لأنها لا تكون جذوراً، والآن ترفض البراعم أطول من ٧ مم. لا احتمال إصابتها بالفيروسات. وفي هذا المدى الضيق للحجم هناك اختلافات قليلة في تكوين الجذور.

٢ - الظروف البيئية للزراعة: Cultural environment

الظروف البيئية المستخدمة عادة في زراعة مرستيمات البطاطس هي ٢٠ - ٢٣م وإضاءة ٢٠٠٠ - ٤٠٠٠ لوكس لمدة ٢١ ساعة في اليوم درس Pennazio & Redolfi, 1973 تأثير ثلاثة أساليب للإضاءة: لمبات غنية بالضوء الأحمر، لمبات إضاءة طول اليوم، ١:٢ خليط من الاثنين فكانت عملية تكوين الجذور تحت كل أسلوب حوالى ٨١، ٤٣، ٦٧٪ على التوالي، وكذلك كانت النباتات تحت الضوء الخليط أكثر قوة، ولا يوجد اختلاف في النسبة المئوية لتكوين الجذور تحت كثافة ضوئية ٢٠٠٠ - ٤٠٠٠ لوكس، ولكن نمو الأوراق والجذور كان أحسن على ٤٠٠٠ لوكس.

وهناك مقارنة لتأثير الحرارة على نمو المرستيمات في أصناف عديدة، زرعت في بيئة MS - 62 سائلة على ثلاث درجات حرارة. فعلى ٢٩م بعض الأصناف نمت أسرع وأعطت جذوراً في ٥ أسابيع، والنمو في الأخرى كان غير طبيعي، الأوراق أكبر وسميكة وشاحبة اللون والجذور قليلة أو غائبة، وإذا لم تنقل هذه البراعم لبيئة جديدة تموت غالباً. وعلى ٢٦م النمو كان أبطأ، ولكن نمو الأفرع يسبق نمو الجذور. الأفرع عديمة الجذور تفرق في البيئة السائلة، ويجب تدعيمها بقنطرة من ورق الترشيح لمنع غمرها وموتها. أما على ٢٣م يبطؤ النمو جداً، ولكن الجذور والأفرع تنمو عادة في وقت واحد.

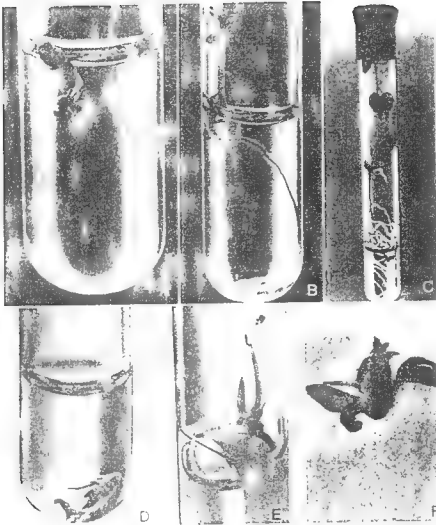
وإذا اصفررت البراعم يمكن نقلها لبيئة طازجة دون قنطرة ورق الترشيح، وإذا لم تنقل تظل متوقفة عن النمو لعدة أشهر، وتستعيد نموها النشط عند نقلها لبيئة طازجة. بعض الأفرع عديمة الجذور، والتي غرقت في البيئة السائلة تصبح رفيعة وتتشوه ثم تتلف (شكل ١١ - ٤). وهذه يمكن رفعها بورق الترشيح أو بتدعيمها على جذور طماطم. وقد وجد

Morel & Martin, 55 ان النباتات النامية على آجار غالباً تتعفن عندما نقلها للتربة، ولكن السوق المقطوعة والمطعمو على نبات طماطم صغيرة جيدة وتؤخذ خلال شهر، وهي ذات جذور. وقد تمكن Mellor & Smith. 1969 من إسراع إخراج الجذور للأفرع، بواسطة قطع جزء رقيق من القاعدة، ثم تعريض السطح المقطوع لهرمون جذور، ثم الزراعة فى رمل أو تربة.

٣ - عوامل أخرى: Other factors

كما وجد فى بعض الأحيان أن اختلاف الأصناف يحدد معدل النمو فى المزارع؛ حيث لاحظ، Quak 1961 أن بعض أصناف البطاطس لا تنمو جيداً على البيئة التى تكون مناسبة جداً لأصناف أخرى. وقد وجد أيضاً أنه فى أصناف عديدة براعم قليلة، تتكشف لتعطي أفرعاً وجذوراً خلال شهرين من الفصل، بينما فى أخرى وتحت ظروف الزراعة نفسها تستغرق ٤ - ٦ شهور، مع تجديد المزرعة مرة أو مرتين.

البراعم المأخوذة من فرع واحد تختلف أيضاً فى نموها. فمثلاً يكون الموقع على الفرع واحداً وحجم البرعم (٣-٧ مم)، ولكن بعد شهرين من القطع يعطى برعماً أو اثنين أفرعاً وجذوراً وأوراقاً لها لون طبيعى، بينما الاخرى تعطى أوراقاً صغيرة شاحبة، ودون أفرع أو جذور، ونقل الأخيرة الى بيئة طازجة غالباً ما يسبب موجة من النمو الضعيف.



شكل (١١-٣): الكشف الطبيعي وغير الطبيعي لبراعم بطاطس في بيئة سائلة الخطوات المتتابعة أثناء عملية الكشف مبينة في (A - C) بعض البراعم تفرق وتضوت عند تصديدها على كوبري من ورقة الترشيح D - E، وبرعم بعد نقله إلى ورق ترشيح بدأ يستكمل تكشفه (F).

بمجرد خروج الجذور تستمر النباتات في النمو دون نقل حتي تزدهم أنبوبة المزرعة بالجذور، التي تلتف الأفرع على قممتها. ويمكن الاحتفاظ بالنباتات لمدة غير محدودة بواسطة نقل قمة الفرع (طول ٢ - ٣ سم) إلى بيئة جديدة على فترات كل ٤ شهور، أو عندما تقترب البيئة في الأنبوبة القديمة من الجفاف، وفي الحرارة المنخفضة يقلل الفصل وتطول المدة بين كل تجديد.

٣ - استئصال الفيروس : Virus Eradication

أ - العوامل التي تؤثر على الاستئصال : Factors influencing eradication

١ - مضادات البناء الحيوى : Antimetabolites

تشير مراجع زراعة الانسجة الى فائدة antimetablites في بيئة الزراعة. أجريت بعض التجارب على مزارع الكالوس وأخرى على قطع من عقل الساق، ولكن الاغلب على المستيمات القمية. بعض antimetabolites في تركيز لا يضر النبات يثبط تضاعف PVX، ولكن تقارير قليلة نشرت عن الاستئصال، ذكر Noris ١٩٥٤ أن PVX قد يستأصل بعد المعاملة بواسطة مالاكيت أخضر malachite green بينما تظل أغلب براعم المعاملة مصابة، ولكن في عديد منها يتأخر ظهور الفيروس، وواحد فقط يصبح خالياً من PVX. استعمل Vasti 1973 مرستيماً قمياً بطول ٣ - ٤ مم مع malachite green أو الثيوبوراسيل في البيئة. وعند إضافتها للبيئة مفردة فإن كل الستة نباتات malachite green ونباتين مع ثيوبوراسيل أصبحت خالية من PVX، وعندما تعامل القمم المفصولة بخليط من الاثنين، كانت كفاءتهما أقل.

٢ - حجم البرعم المفصول : Size of Excised Bud

حجم المرستيم المفصول له أهمية قصوى في تحديد النجاح؛ خصوصاً في PVS&PVX، قطع Kassanis & Varma, 1967 مرستيمات بطول ١ ر. م، وبدون أو مع Leaf primor- dium، ولاحظا أن ١٩٦/٢٠ فقط برعم تكشفوا لنباتات، ولكن ١٩ منها كانت خالية من الفيروس.. فصل Accatine, 1966 مرستيمات معها اثنين من Leaf primordia، وذكر أن

كل ١٨ نباتاً كانت خالية من فيروسات PVR - PVY - PVM، ولكن ستة فقط منها كانت مصابة بفيروس PVX و١٥ بفيروس PVA.

جدول (١١ - ٤) : تأثير إضافة مضادات البناء الحيوى إلى البيئة الصناعية

على تثبيط فيروس البطاطس في القمم المفصولة.

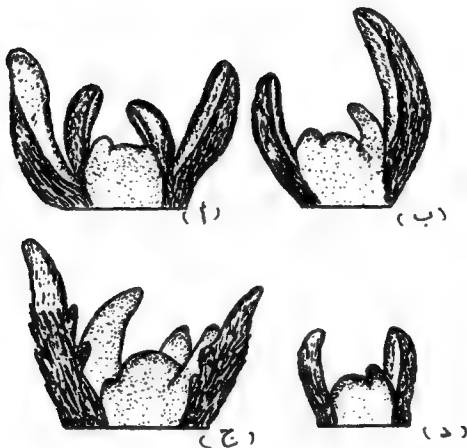
المؤلف	الاستئصال	التثبيط	مضاد البناء الحيوى	
NORRIS, 1954	+	+	أخضر ملاكايت	١٠
THOMSON, 1956	-	-	أخضر ملاكايت	٥
MANZER, 1958	-	-	أخضر ملاكايت	٢ - ١
MANZER, 1958	-	-	ثيوهوراسيل	٢ - ١
QUAK, 1961	+	+	٢ر٤ داي كلورو	٤ - ٣
VASTI, 1973	+	+	فينوكس حمض الخليك	٠,٧ - ٠,٥
VASTI, 1973	+	+	أخضر ملاكايت	
PENNAZIO, 1973	-	-	ثيوهوراتيل	
PENNAZIO, 1973	-	-	أزجوانين	
PENNAZIO, 1973	+	-	فلوهوراسيل	
PENNAZIO, 1973	-	-	ثيوهوراتيل	
PENNAZIO, 1973	-	-	فلوروفينايل	
PENNAZIO, 1973	-	-	الآئين	

لاحظ Kassanis & Varma, 1967 أن أصناف البطاطس المختلفة لها مرستيمات ذات أشكال وأحجام مختلفة. وقد وجد أنه في الفرع الواحد قد يختلف الحجم الذي يوصى به في المراجع. يختلف اختيار حجم البرعم، فبعضهم يأخذ بالطول الكلى والآخرين بعدد leaf primordia. وكلا الاختيارين يعطيان فكرة تقريبية عن حجم الأنسجة اللازمة.

شكل (١١ - ٦) يوضح أنواعاً من المرستيمات وصعوبة تحديد حجم كل منها، ففي شكل (١١ - ٥) يظهر برعم جانبي ذو اثنين من leaf primordia وأربعة من rudimentary leaves وإزالة الأخيرة فقط تجعل طول المرستيم حوالي ٢، ٣، ٤ مم. وشكل (١١ - ٥) يوضح برعمًا جانبيًا أيضًا له اثنان من leaf primordia، وإذا تركنا الاثنان يصبحان أصغر من البرعم الأول. أيضا اختيار حجم المرستيم الطرفي صعب. والبرعم الطرفي عادة أكثر في العرض عن الطول، ويحاط بواسطة whorl of leaf primordia، (شكل ١١ - ٦ - أ). ومن غير المرغوب فيه الحجم الكبير للأنسجة والعدد الكبير من leaf primordia. يوضح شكل (١١ - ٦ - ب) البرعم الجانبي لنباتات البطاطس بعد عدة أشهر من الزراعة، وهناك أكثر من ٦ براعم على النبات الواحد، والتي تتميز بصغرهما وتجانسهما في الشكل والحجم. ومثل هذه النباتات تمد الباحثين بالمادة النباتية الموحدة للمرستيمات لزراعتها تحت الظروف المختلفة.

٣ - المعاملة الحرارية : heat treatment

المعاملة الحرارية للنباتات المصابة قبل فصل البراعم، تسهل استئصال بعض الفيروسات التي من الصعب استئصالها بزراعة المرستيم وحده. وبعد المعاملة الحرارية تصبح براعم كثيرة نسبياً خالية من الفيروس، والتي تستعمل عادة في الزراعة. ومن فيروسات البطاطس التي يصعب استئصالها - PSTV - Aucuba masai - PLRV - PVA - PVY - PVM - PVX - PVS، وكل هذه تشمل سلالات تتميز بمقاومتها للمعاملة الحرارية عن الأخرى. مثلاً Kassanis, 1970 استأصل PLRV من كل الدرنات بواسطة المعاملة الحرارية وحدها، بينما وجد - Mellor & Stace smith, 1971 سلالات من PLRV تظل باقية بعد المعاملة الحرارية وزراعة المرستيم، كما وجد أن PVA & PVY غالباً ما تستأصل بزراعة المرستيم دون المعاملة المسبقة بالحرارة.



شكل (٤-١١): رسومات تبين القمة للبرستيمية والأوراق حولها أ و ب تمثل براعم جانبية و جـ برعم طرفي به قمة مبرستيمية كبيرة وعند اكبر من الأوراق البدائية (بريمورنيا) و د: برعم جانبي من النبت Plantlet بعد عدة أشهر من زراعة الخط الوسطى بين جـ، د، ٢٠ مم.

وجد (Morel et al 1968) ان هذين الفيروسين يستأصلان من ٨٥-٩٠٪ من المرستيمات بينما PVS & PVX اقل من ١٪ فقط. ولكن (Kassanis 1965) وجد ان PVA بقى في ٣٩-٣٩ نبات تمت من براعم قطعت بعد معاملة ١٢ - ٢٠ يوم على ٣٧م. وتقارير أخرى أكدت ان PVA بقى في نباتات أخليت من PVX.

لم تجد معلومات منشورة عن *aucuba mosaic* في البطاطس، ولكن لدينا نتائج لبحاث أولية على نباتات تكشف عن مرستيمات سبق تعريضها للحرارة؛ حيث ظل $\frac{4}{70}$ نبات مصاباً فقط.

الفيروسان PVS, PVX نادرة الاستئصال دون ان تفصل البراعم وهى صغيرة جداً أو تعامل النباتات المصابة بالحرارة قبل فصل البراعم. قارن (Mellor & Stace - Smith, 1970) سهولة استئصال PVS, PVX من ٢١ نبات مصاب بكل الفيروسين، وقد وجدا ان PVX عادة أكثر تأثراً بالمعاملة الحرارية عن PVS، حيث يبقى في حوالي ٣٪ من البراعم المفصولة بعد ٤ - ٦ أسبوع من المعاملة الحرارية ونادراً بعد معاملة أطول، وقد وجدا ان أكثر سلالات PVX تمحلاً للحرارة تبقى في ٣٪ من البراعم المفصولة بعد معاملة حرارية ١٠ أسابيع.

فيرويد الدرنه المغزلية في البطاطس أكثر صعوبة في الاستئصال فقد فصلت براعم في نباتات مصابة بحدة بالفيرويد، بعد معاملة حرارية ٢ - ١٤ أسبوع فظلت الإصابة الحادة في ٦٢ من ٦٦ نباتاً، أما الأربعة الباقية فأصبحت معتدلة الإصابة. واستعمل واحد من الأربعة كمصدر في التجارب التالية. والبراعم التي فصلت بعد ٢ - ١٢ أسبوعاً من المعاملة وجد ان معدل الاستئصال صغير جداً ٦ / ٢٤٨ فقط. النتائج المختلفة لمحاولات الاستئصال في الفيروسات اقترحت ان هذا المصدر للفيرويد قد يكون غير عادي المقاومة للحرارة، وان الفيرويد من مصادر أخرى قد يكون اقل صعوبة في الاستئصال. درجة الحرارة واستمرار المعاملة الحرارية استخدم بواسطة عديد من الباحثين، عندما تكون درجة الحرارة ٣٧م يكون الاستمرار ٣ أسابيع أو اقل، حيث يتحدد ذلك بمدة بقاء درنات البطاطس حية والانخفاض الطفيف في درجة الحرارة يزيد البقاء كثيراً، أخير (Mellor & Stace - Smith 1967) بقاء الدرنات وكذلك تكشف النباتات من الاجزاء الجذرية في درجات الحرارة المختلفة ووجد

تغير حرارة الهواء يومياً من ٣٣ - ٣٧°م وحرارة التربة من ٣٠ الى ٣٣°م تبقى الدرنات حوالى ١٠ أسابيع والاجزاء الجذرية أكثر من ٦ شهور. وبعد ٤ شهور معاملة تتكشف بعض النباتات الخالية من PVX من قطعة نسيج كبيرة نسبياً. وتزيد النسبة بطول المعاملة الحرارية.. ففي الاجزاء الجذرية تكون الأفرع النامية أثناء المعاملة رقيقة، والبراعم الجانبية صغيرة، وذات عدد قليل من الأوراق الأولية Rudimentary leaves. أما النامية من أجزاء درنات فتكون أفرعاً قوية وبراعم جانبية سميكة، كل منها ذات أوراق أولية عديدة قد تزال قبل فصل البراعم.

٤ - الإصابة المتضاعفة (المشتركة) : Multiple infection

حصل Pannazio, 1971 على نتائج متعارضة عند زراعة مرستيمات من نباتات معاملة بالحرارة فى صنفين .. ففي أحدهما المصاب بفيروس PVX فقط ٣٤ / ٤٢ نبات كانت خالية من الفيروس. وفي الآخر المصاب بفيروسات PVY - PVS - PVM - PVX فكان ٣٤ / ٢ نباتاً خالياً من PVY، كلها من PVM، وأغلبها من PVS & PVM وقد عزی صعوبة استئصال PVX من هذا الصنف للإصابة المشتركة للأربعة فيروسات.

درس Close, 1964 تأثير فيروسات عديدة على تركيز PVX وتضاعفه وحركته داخل النبات وعلاقة ذلك بالحرارة. فوجد أن تركيز PVX يزيد فى وجود PVY عما يكون وحده خصوصاً على ٣١°م. وعلى هذه الحرارة يقل تضاعف PVX ولا يتحرك جهازياً، ولكن بوجود PVY يستمر فى التضاعف ويتحرك جهازياً.. ويزيد تركيز PVX حوالى ٦٤ مرة. ويبدو أن ملاحظات Close تتوافق مع افتراض Pennazio فاحتمال وجود PVY أثناء المعاملة الحرارية مسئول عن وجود PVX أيضاً حتى ولو استأصل PVY فيما بعد بفصل البراعم الصغيرة، رغم أن PVX سجل فى القبة المرستيمية فى براعم البطاطس، ولم يسجل PVY عندما زرع Mellor & Stace - Smith مرستيمات من نباتات معاملة بالحرارة فى ١٨ صنف، كان الاستئصال يتراوح بين ٥٤ - ١٠٠٪ حسب نبات المصدر.

ب - الاستئصال أثناء الزراعة : Eradication during culture

إن تكنيك إنتاج نباتات خالية من الفيروس بواسطة تكاثر المرستيمات المفصولة من

النباتات المصابة يعتمد على نظرية أن الفيروسات لا تتوزع بانتظام داخل عوائلها، ولهذا فإن قطعة صغيرة من الأنسجة قد تكون خالية من الفيروس، وهناك فكرة أخرى أن تركيز الفيروس ينخفض بالقرب من قمة الافرع والاختبارات لتقدير امتداد الفيروس في المناطق الطرفية كانت غير كافية، Kassanis, 1967. كان أول من اقترح أن الاختبار بالميكروسكوب الإلكتروني للمرستيميات الطرفية قد يحدد وجود جسيمات الفيروس Appiano & Pen- nazio, 72، وباستخدام القطاعات الرقيقة والميكروسكوب الإلكتروني كشف وجود PVX في سيتوبلازم الخلايا الطرفية للبطاطس. وقد وجدوا جزيئات في كل المرستيميات التي اختبروها، ولهذا أكدوا أن استئصال الفيروس يتم أثناء الزراعة. هذه الملاحظات أكدها Krylova et al, 1973 بواسطة الفحص بالميكروسكوب الإلكتروني للعصير المتجانس للمرستيميات المصابة بفيروس PVX. وقد فحصوا المرستيميات في ثلاثة أحجام، وقد وجدوا جزيئات قليلة في ٩٨ / ١٠٠ في الطول (٠,٨ - ٠,١)، وأكثر قليلاً في (٠,١ - ٠,٣) وكثيراً في المرستيميات (٣ - ٥,٥ م). وايضاً فحصوا عصير المرستيميات بعد ٤ أسابيع من الزراعة، ووجدوا أن القطع المزروعة الأقل من (٠,١ م) كانت خالية، وفي الطول (٠,١ - ٠,٣ م) كانت قليلة جداً وقد تأكدت هذه الملاحظات بالحقن الميكانيكي.

ميكانيكية استئصال الفيروس أثناء الزراعة غير معروفة. اقترح Ingram 1973 أنه ربما يكون السبب إما بعض العوامل المشببة التي تنتج أثناء الاستزراع، أو تأثير بعض مكونات البيئة على الفيروس. واقترح Quak أن اختفاء جسيمات الفيروس قد يعزى إلى تفاعل المرستيم مع بيئة المزرعة.

ويميل الرأي لنظرية أخرى قد تكون أكثر احتمالاً. إن تضاعف الفيروس يحتاج إنزيمات، والتي تكون متاحة للخلايا قرب قمة المرستيم، وعند قطع قمة صغيرة تختل مؤقتاً عمليات النمو، وتصبح الإنزيمات المطلوبة لخطوة أو أكثر في تضاعف الفيروس غير متاحة، وهكذا يقف إنتاج جسيمات جديدة. في البراعم الصغيرة يكون الاختلال كبيراً وقد تطول فترة عدم الاستقرار في تضاعف الفيروس للحد الذي يتحلل عنده الحمض النووي الفيروسي Viral RNA، ومن الممكن أن تنتفع به خلية العائل. ولكن في البراعم الكبيرة يكون

الاختلال اقل، وتصبح الإنزيمات متاحة، قبل أن يتحلل كل Viral RNA .

ج- الاستئصال الناجح : Successful eradication

١ - الكشف عن الفيروس : Virus detection

حيث إن البطاطس معرضة للإصابة بعدديد من الفيروسات غير المرتبطة، وكل منها له سلالات تختلف في الشدة يكون من الصعب، جداً تعريف والكشف عن هذه الفيروسات . وعلى ذلك فإن وسائل الحقن الميكانيكي - النقل بالملن - السيولوجي - الميكروسكوب الإلكتروني - الإلكترولفوريسيس Electrophoresis كلها تصبح مطلوبة، إذا كان الهدف هو إنتاج Clone خالٍ من الفيروس، لا يكون من الضروري معرفة أى الفيروسات موجودة قبل المعاملة ولكن يجب تسجيل نبات المصدر، إن استخدام نبات مفرد كمصدر والمعلومات عن محتواه من الفيروسات توضح الاختبارات التي يجب أن تجرى لتحديد أى فيروسات لازالت باقية، ولهذا السبب نحتفظ بنبات من المصدر غير معاملة للمقارنة .

من الخبرة السابقة أكثر الفيروسات إصابة هي PVS & PVX، وللكشف عن هذه يستخدم الحقن الميكانيكي على *Chenopodium amaranticolor* & *Gomphrena glo-bosa* حيث يعطى PVX أعراض موضعية على الأخير مبكراً وغامقه أكثر من PVS ويحتاج الكشف عن PVS في وجود PVX للسيولوجي ونتائج الاختبارات السيولوجية لفيروس PVS أحياناً غير مؤكدة ويجب عمل مقارنة واضحة السيولوجي أو الحقن الميكانيكي على النباتات المشخصة يمكن استعمالها للكشف عن PVA - PVM - PVY aucuba mosaic سلالات فيروس التفاف أوراق البطاطس التي تعطي أعراض مرئية على البطاطس نادرة الوجود، وحيث إن PLRV لا ينتقل ميكانيكياً فإن السلالات الغير مظهره للأعراض يمكن الكشف عنها فقط بالنقل بالملن إلى *Physalis floridana*، وللكشف عن السلالات المعتدلة يختار البادرات المتجانسة وتنمى تحت ظروف بيئية محكمة، وقد نجح Murayam et al 1973 في تنقية PLRV وتحضير انتسيم ومن الممكن استعمال السيولوجي في الكشف عن PLRV في العصير الخام للبطاطس المصابة، الكشف عن فيروس الدرة المغزلية في البطاطس يقابله صعوبات النقل إلى بادرات الطماطم مفيد ولكن تظل السلالات المعتدلة دون كشف

يدون Challenge inoculated مع سلالة قوية (Fernow, 1967).

وقد طور Morris & Wright, 1975 تكنيك يشمل استخلاص الاحماض النووية الخلوية وفصلها بواسطة Polyacrylamide gel electrophoresis، وهو يعتمد في الكشف عن السلالات المعتدلة من PSTV.

٢ - الأصناف الخالية من الفيروس : Virus - free cultivars

كان Morel & Martin, 1955 أول من استعمل زراعة المرستيم لاستئصال الفيروسات من البطاطس ومنذ ذلك الحين، طبق هذا التكتيك في عديد من البلدان تشمل أمريكا - فرنسا - بريطانيا - الدنمارك - ألمانيا - فنلندا - اليابان - إيطاليا - كندا .

جدول (١١-٥) : تأثير المعاملة الحرارية وحجم البرعم علي تخليص

النباتات من فيروسات S, Y, C, X البطاطس.

المؤلف	استئصال الفيروس		طول النمو م	المعاملة الحرارية		أجزاء البطاطس
	PVS	PVX		فترة التعريض بالأسبوع	درجة الحرارة	
MCD	٦/١	٦/٤	٠,٢-٠,١٥	صفر - ١,٥	٣٥-٣٠°م	الدرنات
M,S	٩/١	٩/٦	٠,٥-٠,٣	صفر	٣٧-٣٣°م	أجزاء جذبية
P		٥٩/٧	٠,٤	صفر	٣٥-٣٣	نباتات نضجة
		٤٢/٣٤	٠,٤	٣		
	٣٢/صفر	٣٢/صفر	١-١,٦	صفر	٣٧-٣٣°م	أجزاء ذات جذور
S&U	٨/١	٨/٣	١-٠,٦	٤-٢	٣٧-٣٣°م	
	١٤/١	١٤/٩	١-٠,٦	٨-٦		
T				صفر	٣٧°م	درنات متبقة
	١٩/٦			٣		
	٢٧/٢٣			صفر	٣٧°م	درنات متبقة
T	٦/٥			٢-١,٥		

رموز للمؤلف:

MCD: MacDonald 1973.

S, S. M.: Stace Smith and Meller 1968.

P.: Pennazie, 1971.

T: Tapie 1972.

أصبحت العشائر Clones الخالية من الفيروس في كل الأصناف المهمة متاحة الآن. جدول يوضح ذلك من التقارير المنشورة، وهذا الجدول غير مكتمل تماماً، ولكنه يؤكد نجاح هذه الطريقة.

ملخص الطرق الموصى بها

Summary of Recommended Methods

يمكن الحصول على النباتات الخالية من الفيروس من درنات البطاطس بواسطة الطريقة الآتية:

زراعة قطعة من الدرنه ذات عین مفردة في تربة تحت الظروف العادية. عندما يخرج أول نبت، وبطول ١٥ سم، يقطع القمة بطول ٦-٨ سم، وتزال الورقتان السفليتان ويعامل السطح المقطوع بهرمون الجذور. يزرع الجزء المقطوع في وائٍ من البيت قطر ١٠ سم معقمة، وتغطي بناقوس زجاجي لمدة ١٠ أيام. تكون أواني البيت متماثلة النسيج، ويجب التأكد من أن حرارة التربة أقل من حرارة الهواء أثناء المعاملة، وكذلك صرف وتهوية التربة جيداً، كل هذه تساعد على التعمير تحت المعاملة الحرارية. وأخذ قطعة أخرى يكون بعد أسابيع قليلة، وهذا مفيد لاحتمال موت الأول أثناء المعاملة الحرارية. ويحتفظ بالنبات الاصل للمقارنة مع النباتات المكتشفة في المزرعة بعد ٤٣ أسابيع من الزراعة، ينقل لحجرة نمو حيث إضاءة (3000-4000 LUS) لمدة ١٦ ساعة يومياً وحرارة الجو ٢٦م أثناء النهار، و ٢٣م أثناء الليل، وبعد أسبوعين تطوش قمة النبات الصغير ليسمح بنمو الفرع، ويترك على النبات على الأقل ورقتان لتشجيع النمو مرة أخرى. تقطع الاوراق من الفرع المفصول، ويترك قطعة صغيرة من كل عنق ورقة، ويلف الفرع في ورقة مبللة لمنع الذبول. تعقيم الفرع غير ضروري، ولكن فصل البرعم يتم تحت ظروف معقمة، ويجب تعقيم الادوات بعد كل قطع بواسطة الغمر أولاً في الكحول ثم الماء المعقم. وتحت تكبير ٢٥ X يفصل كل برعم بالدور. تشد نهاية الجزء الباقي من عنق الورقة لكشف البرعم الجانبي، وبواسطة الإبرة تكسر الاوراق الاولى، ويترك فقط أصغر اثنين من Leaf Primordia. وبواسطة نصل حاد يقطع المرستيم القمي، ثم بالإبرة ينقل إلى سطح البيعة المناسبة. يجب ان يكون البرعم بطول ٣، ٦-١٠، ٢٠ مم.

والبراعم الأصغر فرصتها في البقاء أقل . والأكبر تصبح أكثر إصابة بالفيروس . توضع المزارع على ٢٣م، وإضاءة ١٦ ساعة يومياً .

كل فرع يعطى ٨ - ١٢ برعمًا، بعضها يتكشف ليعطى نباتات خالية من الفيروس . وحيث إن بعض الأصناف لا تعطى جذوراً وبعض سلالات الفيروس تكون غير عادية البقاء . لتأكيد النجاح يؤخذ فرع آخر (لغرض فصل البراعم) بعد ٢ - ٤ أسبوعاً من المعاملة . بعد ٢ - ٣ شهور من الزراعة تصل إلى طول ٣ سم أو أكثر يمكن نقلها إلى التربة، ولكن هناك نقطة حرجية فعند إزالتها من الانبوبة، تكون طرية وغضة جداً وتذبل، إذا لم تحمى بسرعة من فقد الرطوبة . وإذا كانت التربة مروية بعناية وترش النباتات برقة بالماء وتغطى بناقوس زجاجي لمدة أسبوع، يكون النجاح مؤكداً . عادة يكشف عن إصابة النباتات عند نقلها للتربة فتؤخذ ورقة واحدة ٣-٥ سم في القطر إلى نقطة ماء، تستعمل للحقن على العوائل المشخصة *C.amaranticolor* ، *G.globosa* ، والنتائج السلبية لهذا الاختبار يجب أن تؤكد بعد عدة أسابيع بإعادة الحقن أو بالسيرولوجي والميكروسكوب الإلكتروني .

نظرة على علم الفيروسات النباتية

في الماضي والحاضر والمستقبل

وقد أوضحت في هذا الكتاب المعلومات الحالية في مجال علم الفيروسات النباتية ويهنا في هذا الفصل الأخير من الكتاب أن تلقى نظره على التطور التاريخي لهذا العلم وكذا على التطورات المتوقعة في هذا العلم خلال القرن الحادى والعشرين .

نظرة على الماضي :

وقد تم تقسيم المائة سنة الماضية التي تم فيها البحث في مجال الفيروسات النباتية إلى خمسة فترات ومع أنه من الممكن أن يحدث تداخل بين هذه الفترات إلا أنها تعطى لحد كبير فكرة عما تم بحثه من موضوعات في كل فترة فيها .

١ - ١٨٩٠ - ١٩٣٥ وكان النشاط الاساسى في هذه الفترة هو اكتشاف الفيروس كمسبب مرضى جديد يصيب النباتات واكتشاف حقيقة أن هذا المسبب يمر من المرشحات

التي تمحز أذق البكتريا وأطلق عليها حينئذ الفيروسات المرشحة. ولكن ظلت طبيعة هذا المسبب غير معروفة وظلت عدم القدرة على التمييز بين الفيروسات نفسها وبين الأمراض التي تسببها.

٢ - ١٩٣٥ - ١٩٥٠ وقد تم عزل الفيروس سنة ١٩٣٥ وظهر أنه عبارة عن رايبو نيوكلوبروتين سنة ١٩٣٦ وفى السنوات التالية تم اكتشاف وعزل عدد كبير من الفيروسات وتم دراسة خواصها الطبيعية والكيميائية وقد ظهر أنها جميعها تتكون RNA من وبروتين وفى سنة ١٩٥٦ تم التوصل إلى أن الحمض النووى بمفرده قادر على العودة.

٣ - ١٩٥٦ - ١٩٧٠ وهنا تم اكتشاف الفيروسات النباتية الثامنة ذات الحمض النووى DNA ثنائى الخيط (ds DNA) وكان التقدم الأهم فى هذه الفترة هو استخدام الميكروسكوب الأليكترونى فى دراسة الفيروسات النباتية وحدث لتطور كبير فى الميكروسكوب الأليكترونى وكذا فى طرق تحضير العينات للفحص. وقد سمحت طريقة الصبغ السالب برؤية بعض تراكيب الفيروسات المنقاه. كما سمحت فحص القطاعات فائقة الدقة إلى دراسة تأثير بعض الفيروسات على الخلايا النباتية.

٤ - ١٩٧٠ - ١٩٨٠ وقد أدى التطور الكبير فى استخدام أشعة X عالية القدرة على إظهار التركيب ثلاثى الأبعاد للغطاء البروتينى لبعض الفيروسات كما أدى التقدم فى دراسة البروتربلاست إلى تقدم ملحوظ فى دراسة الطريقة التى تتضاعف بها الفيروسات داخل الخلية. كما أدت الدراسات in vitro على RNA الفيروس إلى إعطاء بعض المعلومات عن استراتيجيات جينوم الفيروسات النباتية.

٥ - ١٩٨٠ - ١٩٩٠ وهذه الفترة تميزت بالتقدم الذى حدث فى معرفة التتابع النيوكليدى فى الجينوم الفيروسي وكذا القدرة على إنتاج cDNA معدى من نسخ من الـ RNA فى الجينوم الفيروس RNA مما سمح باستخدام تكنيكات التركيب الجينى. وقد أظهر لنا التتابع النيوكليدى بتفهم تركيب الجينوم لمعظم مجموعات الفيروس النباتية. كما تقدمت طرق تشخيص الفيروسات التى تعتمد على تهجين الحمض النووى. كما

تزايدت الآمال لابتكار طرق حديثة لمقاومة الأمراض الفيروسية التي تعتمد على إدخال أجزاء من الجينوم الفيروسي إلى نباتات بعض المحاصيل.

نظرة على المستقبل في علم الفيروسات

من المنتظر أن يتسع مجال الدراسات في القرن القادم سواء في النواحي الأساسية أو العملية وأن يكون هذا المجال غير محدوداً وهذا يتأتى نتيجة للتطور المذهل الذي يحدث في التكنيات القائمة على أساس تكنولوجيا تحديد الجينات.

دراسات على التركيب البنائي:

لقد أدى استخدام التحليل بواسطة أشعة X المبلورة إلى زيادة معلوماتنا عن التركيب الدقيق لبعض الفيروسات الصغيرة ومع ذلك فإن هذا التكنيك يجعل مسألة التفسير الموضوعي ممكناً عن طريق إحلال حمض أميني محل آخر في البروتين الفيروسي. وحيث من الممكن أن يؤدي إلى المزيد من تفهم تفصيلاً لديناميكه العلاقة بين التركيب والوظيفة في الكابسيد البروتيني سواء المبنى أو غير المبنى.

تضاعف الفيروسات:

كثير من الأمور مازالت غير مفهومة في عملية تضاعف الفيروسات:

١ - مثل مناطق التضاعف - وقت التضاعف والميكانيكية التي تم بها تخلص الجينوم الفيروسي من غلافه البروتيني بعد حقنه.

٢ - مناطق وميكانيكية تجمع الفيروسات in vivo من حزمة من الاحماض النووية والبروتين.

٣ - الميكانيكية التي بواسطتها الحمض النووي المحقون يستقر وينظم مواطن التضاعف داخل الخلية والتي قد يتعرض بعضها إلى حدوث تغييرات في بعض أعضاء العائل.

٤ - دور عضيات (مكونات) خلية العائل في تضاعف الفيروس.

٥ - الطريقة التي يتم بها تحويل كلى أو جزء من جهاز تمثيل البروتين في خلايا العائل.

٦ - الطريقة التي يمتاز بها تستطيع الفيروسات توجيه العمليات البنائية في الخلية لإنتاج المركبات اللازمة لتمثيل الفيروس.

٧ - كيف يتم التنسيق بين الوقت . للموضع الذى يتم فيه تمثيل مكونات الجين داخل الخلية.

٨ - الأحداث المحددة لكمية الفيروس النهائية المنتجة داخل الخلية.

٩ - الميكانيكية التي تحدد وتضبط انتقال الفيروس من خلية لآخرى فى النسيج المصاب.

وعموماً فإن الطرق العلمية والتنظيم الموجودة حالياً تسمح بالإجابة لعدد كبير من التساؤلات السابقة بينما يمكن الوصول إلى إجابات عن البعض الآخر خلال السنوات القليلة القادمة وهذه تشمل :

١ - الكائنات الانتقالية : Transgenic Organises

حيث التعبير عن الجين الفيروسي المفرد فى النباتات الانتقالية يفتح الباب لإمكانيات عديدة لدراسة نقاط متعددة فى تضاعف الفيروس *in vivo* بالإضافة إلى تطور النظام الناقل مما يؤدي إلى تطوير التعبير عن الجين الفيروس منفرداً أو بمصاحبة العديد من الانظمة فى الترتيبات .

٢ - تطفر أو إعادة بناء الفيروسات *in vivo* حيث إن القدرة على إحداث تغيرات أساسية *in vitro* أو بحقن فى أماكن معينة فى الجينوم الفيروس وتركيب الفيروس الهجين *in vitro* .

سوف يفتح إمكانيات عديدة لإجراء تجارب لتوضيح وظائف الجينوم الفيروس والبروتينات المشفرة من أجلها .

٣ - التوصيف فى الموقع *in situ* transep حيث إنه تحت الظروف المناسبة فإن ال RNA الرسول يمكن أن يعمل كقالب لإعادة النسخ فى *in situ* خلال قطاعات من الانسجة المتينة وهذا يسمح بالتعرف على بداية عملية النسخ وخلال هذه الخطوة فإن النيوكليوتيدات المشعة تستعمل للتعرف على مسار أو تمركز ال RNA الرسول .

٤ - اختيار اللمرة المتسلسل PCR يعتبر طريقة جديدة فعالة التي تفتح المجال لإمكانية دراسة جزيئات الحمض النووي التي قد تتواجد في نسخة واحدة أو عدة نسخ قليلة في كل خلية.

٥ - تداخل الأحماض النووية حيث وجدت هذه الظاهرة في النباتات المصابة بالأحماض النووية الصغيرة للفيروسات النباتية وهذه في العادة تتكون نتيجة لطفرات في الجينوم الفيروس الذي يتكون من ٥ أو ٣ تنابعات طرفية في الجينوم مع حدوث تغيرات داخلية كبيرة.

وهذه من الممكن أن تصبح أدوات نافعة جداً لدراسة مختلف نواحي تضاعف، وميكانيكية بناء الجسم كما أنها من الممكن أن تعطى فرصاً أكبر للتعديل في طرق مقاومة الأمراض الفيروسية.

٢ - ٣ - أحداث المرض : Induction of the disease

إن دور الجين الفيروس وكذا دور جين العائل في أحداث المرض يعتبر واحد من أهم المجالات التي يشملها البحث في الفيروسات النباتية. أن الطرق السابق الإشارة من الممكن أن توصل إلى كثير من النقاط في هذا الموضوع ولا عطاء مثال على ذلك فإن طبيعة المساحات الخضراء القائمة في النسيج الذي يحتوى على قليل أو عدم وجود الفيروس مثل الذي يحدث في أمراض الموزيك لم يمكن التعرف عليها بدقة بعد حيث إن هذه المساحات الخضراء القائمة من النسيج تعتبر مقاومة للإصابة وكان مفترضاً من فترة طويلة أن بعض العمليات مثل Lysogeny من الممكن أن تعطى المقاومة لمثل هذه الأنسجة ولكن حتى الآن لم نتوصل إلى طريقة يمكن بها إثبات تلك الفكرة. إلا أنه من الممكن باستخدام PCR من البحث عن نيوكليوتيدات RNA الفيروس ف صورة الـ DNA في النسيج الأخضر الغامق وهذه الطريقة من الممكن أن تكون حساسة بدرجة كافية للكشف عن نسخة واحدة من الجينوم الفيروس أو جزء منه في الخلية الواحدة إن وجد.

٢ - اجمال العوائل: Host range

إن حقيقة أن فيروس معين يمكن أن يصيب بعض الأنواع النباتية والأصناف دون غيرها حتى ولو كانت قريبة جداً لبعضها أخذ اهتمام الباحثين في مجال الفيروسات النباتية لعدد من السنين وتم التوصل إلى بعض الإصابات لكن مازال إجراء التجارب ممكناً لتوضيح ذلك فعلى سبيل المثال لو أن خليطاً من سلالات فيروس X البطاطس أخذت من الدنات وحقنت في عائل أجبر من العائلة الباذنجانية هو *Cyphomandra betaceae* نجد أن نوع معين من السلالات هو الذي يصيب هذا العائل جهازياً إلا أنه ميكانيكياً اختبار هذه السلالة للعائل مازالت غير معروفة ويمكن قد يكون التنافس بين ترك البروتين الفيروسي المشفر مع العائل ويمكن اختبار هذه الفترة عن طريق تحديد التتابع النيوكليوتيدي للسلالات المختلفة ولو حدث الاختلاف في الجين المسئول عن التحرك فإنه يمين التفسير عن طريق تبديل الجين بين السلالات.

٢ - ٥ - البيئة: Ecology

بالرغم من أن دراسات قليلة قد أجريت على الفيروسات في بيئتها الطبيعية إلا أنه ليس هناك ما يمنع من إجراء مزيد من البحوث في هذا المجال. متى هذه الدراسات سوف توسع.

الباب الثاني عشر

مصطلحات

Glossary

مصطلحات

Glossary

الكائن : Organism

كائن حى غالبا ما يتكون من واحد أو أكثر من الخلايا القادرة على التكاثر بواسطة النمو وانقسام الخلية.

البلازميد : Plasmid

وحدة ذات وزن جزيئى صغير يتكاثر ذاتياً، ومكونة من DNA دائرى مغلق بروابط تساهمية وخالى من البروتين وليس ضروريا لاستمرار الحياة لعوائله . البلازميدات تتواجد فقط فى البكتيريا .

البريون : Prion

مسبب مرضى يحتوى على بروتين ومقاوم للتغيرات المؤثرة على الاحماض النووية . كما ان وجود أو عدم وجود حمض النواة فى البريونات ما زال يحتاج الى إجابة، والاكثر احتمالا أن البريونات تتكاثر داخل الخلايا ولكن ميكانيكية تكاثرها غير معروفة .

الفيروس : Virus

مسبب مرضى معدٍ صغير، يتكون من جزيئى حمض نووى، عادة محاط بغلاف من البروتين . بعض الأغلفة الفيروسية تحتوى أيضاً على ليبيدات وكربوهيدرات . حمض النواة لجزيئى الفيروس، ربما يكون RNA او DNA، وليس الاثنين معاً .

وللأحماض النووية الفيروسية القدرة على التكاثر مباشرة داخل الخلايا الملائمة، وتخليق جزيئ أو أكثر من بروتينات متخصصة من ميتابوليزم العائل باستخدام ميكانيكية التخليق الحيوى للخلية فى عملية إنتاج الفيروسات الأولية Progeny تحاط الإنزيمات أو تحت الوحدات الإنزيمية بالفيروس، وفى بعض الحالات أيضاً بواسطة العائل المستخدم .

Defective Virus: الفيروس المشوه

جزء فيروس يفتقر إلى بعض المعلومات الوراثية اللازمة لتضاعفه، أو التي تقوم بوظيفة تخليق الغلاق البروتيني.

Helper Virus: الفيروس المساعد

فيروس له أهمية في عملية تضاعف الفيروس الناقص (المشوه) أو الـ RNA التابع.

Satellite RNA: الفيروس التابع

RNA صغير يتجمع كرزمة (حزمة) مع القشور المصنوعة البروتينات المغلفة لفيروس آخر غير مرتبط من الفيروسات المساعدة، والتي يعتمد عليها Satellite RNA التابع لإتمام عملية تكاثره.

Slow Virus: الفيروس البطيء

اصطلاح غير دقيق استخدم للعوائل المعدية والمسببة لأمراض الحيوان، والتي تصبح واضحة فقط بعد مرور فترة حضانة طويلة (شهور إلى سنوات). بعض من تلك الأمراض قد تحدث بواسطة الفيروسات والآخرى بواسطة البريونات.

Viroid: الفيرويد

مسبب مرضي معد يتكون من جزيء RNA ذات وزن جزيئي منخفض داخل الخلايا الحية الملائمة. تكتسب الفيرويدات تكاثرها مباشرة من ميتابوليزم العائل، مستخدمة ميكانيكية التخليق الحيوي للخلية وإنزيمات العائل بالتحديد.

Infection: الإصابة

وجود وتضاعف الكائنات الدقيقة سواء كانت فيروسات أو فيرويدات أو بريونات داخل العائل؛ مما يؤدي إلى حدوث مرض للعائل وظهور أعراض مرضية عليه.

Latent Virus: الفيروس المتخفي

فيروس يصيب العائل دون حدوث مظاهر المرض.

الإيسوم: Episome

حمض نووي يتكاثر كوحدة ذاتية داخل العائل، أو كوحدة غير كاملة ملتصقة بكروموسوم العائل.

كابسومير: Capsomer

وحدات مورفولوجية يتكون منها الكابسيد، وحيث إن هذه الوحدات المورفولوجية لا يمكن تمييزها في كابسيد الفيروسات ذات السيمتيرية الحلزونية؛ لذا فإن استعمال هذا الاصطلاح لابد أن يكون مرتبطاً بالفيروسات ذات السيمتيرية المكعبة. تتكون الكابسيدات من وحدات، ويعتمد ظهورها في الميكروسكوب الإلكتروني على الحجم النسبي والمسافة بين وحدات البناء.

نيوكلوكابسيد: حمض النواة وغلطفه من البروتين

حمض النواة يحمل المعلومات الوراثية للفيروس على حمض نووي ودونه لا يتضاعف الفيروس، وقد يكون هذا الحمض إما DNA أو RNA، ولا يتواجد معاً في الفيروس إلا أنه قد ظهر حديثاً أن الأورام الحيوانية المحتوية على RNA تحتوى على كميات قليلة من DNA؛ مما يشير إلى أن هذا التعريف غير دقيق، وقد يتغير.

الجهنوم:

المعلومة الوراثية الكاملة محمولة بداخل الفيروس كحمض نواة.

أجسام أولية: Elementary Bodies

جزئى فيروسى يرى بالميكروسكوب الضوئى.

الفيروس - جزئى الفيروس: Virion /Virus Particle

هذان الاصطلاحان متشابهان، وتعود على الفيروس الكامل، كما يرى في الميكروسكوب الإلكتروني، كما أنه كامل لأن يكون قادراً على الإصابة. كلمة فيروسون ربما تكون أصبح للفيروس الكامل، أما كلمة جزئى الفيروس فكانت تطلق عندما كانت الطرق

أقل دقة، ولم تظهر التركيب للفيروس كاملاً. ربما يميز الفيروس على أنه طفيل إجبارى داخل الحلقة، يحتوى على نوع واحد من حمض النواة، ومحاط على الأقل بطبقة واحدة من البروتين، كما أنه غير قادر على الحركة الذاتية، وليس به قطاع إنزيمى ليخلق نفسه، دون الحاجة لمساعدة الخلايا الحية.

الطرف : Envelope

غشاء ليبيروتين مأخوذ من غشاء خلية العائل فى أثناء انطلاق الفيروس، ويحيط بالنيوكلو كابسيد لبعض الفيروسات مثل فيروسات الإنفلونزا والحصبة، وربما يحمل الغلاف بروتينات خاصة بالفيروس، مع الوظيفة البيولوجية المميزة للفيروس، مثل هيماجلوتينين والنيورا ببتيديز. وهذه الوظائف ربما تكون مهمة أثناء إصابة الخلية، وبالتبعية انطلاق فيروسات جديدة.

هكسون :

وحدات مورفولوجية تظهر على سطح الفيروس، التى تكون محاطة بست وحدات أخرى مميزة، ويظهر فى موديل فيروس اوينو، على أنها هكسون ذات ست وحدات بنائية متجاورة.

بنتون :

وحدات مورفولوجية تظهر على سطح الفيروس محاطة بخمس وحدات متقاربة، بالحجم نفسه. وحيث إنه من الصعب تواجد خمس وحدات ملتصقة حول سادسة مشابهة على سطح أملس، فإن البنتون يقع دائماً على القمة (apex).

الوحدات المورفولوجية :

تحت وحدات يمكن تمييزها فى الميكروسكوب الإلكتروني، وهى عبارة عن تجمع لوحدات بنائية.

الوحدة الكريستالية : Crystallographic

وهى وحدة تركيبية للفيروس، والتى تكون نظاماً مكرراً، ويمكن إظهارها بأشعة X،

وبالتالى فهى ملتصقة بالتالى بسمتريه الفيروس .

وحدات بناء : Sub Units

هى عبارة عن أحجار البناء التى يبنى بها الفيروس، وهى عادة بروتينات متشابهة ذات وزن جزيئى ٢٠٠,٠٠٠، ويتم البناء باستعمال عدد كبير من تحت الوحدات حفظ حمض النواة والسمتريه فى الجزيئ الفيروسي الناتج. الوحدات البنائية تظهر فى الميكروسكوب الإلكترونى كوحداث مورفولوجية، أو كمكونة لكابسيد الفيروسات ذات السيمتريه الحلزونية.

الغطاء البروتينى : Coatprotein

اصطلاح يستعمل باتساع لطبقات البروتين للفيروس من خارج الكابسيد .

داى مورفيزم : Dimorphism

فيروس ذو شكلين مختلفين، وربما يظهر الفيروس الداى فورم فى شكلين فى تحضير واحد، وهذه ربما تكون متداخلة Inter Convertible بتغيير الصبغات أو pH أو Hydration للتحضير.

مونومورفيزم : Monomorphism

ذات شكل مورفولوجى ثابت تكون فيه كل الجزيئات الفيروسية المتكاملة فى التحضير متشابهة، ورغم أن مظهرها قد يختلف قليلا معتمداً على اتجاهها أو وضعها على الشبكة.

بليومورفوزم : Pleomorphism

ذات أشكال وأحجام عديدة فى التحضير الواحد، وعلى ذلك فى الفيروس البليومورفيزم ليس له شكل مورفولوجى ثابت.

السمتريه : Symmetry

هذه خاصية تميز الكابسيد أكثر من الفيروس، وتستخدم من أجل تقسيم الفيروس، وتنشأ عن التكرار البنائى للكابسيد، والذى يتكون من عدة من الوحدات البنائية

تجمع الكابسيد من هذه الوحدات المتكررة له عديد من المميزات :

١ - كمية قليلة من حمض النواة تكفى لعمل تركيب بروتينى كبير، كما أن الجزء نفسه من حمض النواة يعاد استعماله لعدة مرات لعمل تحت وحدة متشابهة.

٢ - كل تحت وحدة محاطة بواسطة وحدات متشابهة، ولها الظروف نفسها.

٣ - تجمع جزء بجزء bit - by - bit للفيروس، ينتج عن رفض الوحدات المشوهة، والفيروسات تكون إما ذات سيمترية حلزونية أو مكعبة، وفي حالة غياب معلومات مميزة مثل فيروس الجدري pox v يقال عادة إنه ذو سيمترية معقدة، وبهذا يكون مميزاً بشكل سيمترى.

السيمترية الحلزونية :

حيث وحدات الكابسيد حول الحمض النووى كأساس مكونة غلافاً حلزونى الشكل، وفى وسط محوره يوجد حمض النواة الحلزونى . وبالمفهوم نفسه فإن خيطاً بريماً له محور سيمترى بطول وسطه فى الفيروسات ذات السيمترية الحلزونية . هناك محور واحد للسيمترية .

السيمترية المكعبة :

المكعب له محاور سيمترية، كل ثلاث طيات three fold مراكز خوافها (ثنتين) ومراكز أسطحها أربعة طيات (four) . الفيروسات ذات المحاور المتشابهة يقال عنها إنها ذات سيمترية مكعبة، والحقيقة فإن كل الفيروسات ذات السيمترية المكعبة تكون من شكل إيكوزا هيدرون، الذى له ٢, ٣, ٥ محاور طيات للسيمترية .

ويمكن تقسيم الفيروسات إلى مجاميع على أساس سيمتريتها، وكذلك على أساس شكل حمض النواة الذى تحتويه .

Skrew تطلق على فيروسات ذات السيمترية المكعبة، وهو يبين أن الكابيسوميرات السطحية لمثل هذه الفيروسات ذات شكل يمينى أو شمالى، ومثل هذه الفيروسات تظهر

برمجة، وذلك راجع لغياب الحواف المميزة التي تظهر في حالة الإيكوزا هيدرون. كما يظهر من الفحص الدقيق للكابسوميرات أنه ليس بالإمكان تتبع خط مستقيم من الهكسونات من بنتون لآخر؛ ولذا فمن الضروري التحرك خطوة لليساار left handed أو إلى حركة مشابهة.

إيكوزا هيدرون:

جسم جامد له عشرين سطح مشابه لثلث متساوى الاضلاع. وهو شكل جيوميترى، والذي يعتمد عليه كالأساس الذى تبنى منه معظم أو ربما كل الفيروسات ذات السيمترية المكعبة، وبذلك يمكن أن يكون الفيروسات، وعلى أساس نظام الإيكوزا هيدرون فى نظام سيمترى ٥: ٣: ٢، وربما لا تحتوى على شكل إيكوزا هيدرون.

Plant Viruses

Contents

Preamble:

Chapter I: Introduction.

Chapter II: Structural and Chemical Composition of Plant Viruses .

A. Structural of Plant Viruses.

B. Chemical composition.

C. Viral Genome.

Chapter III: Plant Virus Strains.

Chapter V: Taxonomy of plant viruses

Chapter IV: Purification of Plant Viruses & its physical and Chemical Properties.

A. Purification of Plant Viruses.

B. Physical & Chemical Properties of Plant Viruses.

Chapter VI: Relation between the virus and plant host.

A. Invasion, Replication and Spread of virus in plant Host.

B. Symptoms of Virus Infection.

Chapter VII: Production of Antisera and Serological Diagnosis of Plant Viruses.

A. Antigens and Antibodies.

B. Serodiagnosis of Plant Viruses.

Chapter VIII: Plant Virus Transmission.

Chapter IX: Plant Virus Epidemiology.

Chapter X: Control of Plant Viruses.

Chapter XI: Production of Virus Free Plants using Tissue Culture.

Chapter XII: Glossary.

For Further Studies

- 1 - Alan Brunt, et al, Viruses of Plants, CAB, 1996.
- 2 - Alan Brunt, et al,: Viruses of Tropical Plants, CAB, 1990.
- 3 - Allam, E.K. : Virology "Principles" Anglo Press, Cairo, 1993 (in Arabic).
- 4 - Dharma D. Shukla et al: The Potyviridae, CAB, 1994.
- 5 - David, R.H. : Molecular Virology, Bios Scientific Publishers, 1994.
- 6 - Hadidi, A, et al: Plant Viruses, Disease Control, APS, 1998.
- 7 - Harrison, B. et al: The Plant Viruses, Plenum Press, U.K., 1996.
- 8 - Matthews, R.E.F. Plant Virology, Third edition, ACP, 1991.
- 9 - Matthews, R.E.F.: Fundamentals of Plant Virology A.P., 1992.
- 10 - Mayer, C. et al: Antiviral Proteins in Higher Plants, CRC Press, 1994.

Plant Viruses

Prof. Dr. E.K. ALLAM

**Faculty of Agriculture
Ain Shams University**

Prof. Dr. E.A. SALAMA

**Faculty of Agriculture
Cairo University**

Prof. Dr. R.A. OMAR

**Faculty of Agriculture
Kafr El Sheikh
Tanta University**



**Publisher
ACADEMIC BOOKSHOP**

2000

رقم الإيداع ٢٠٠٠/٥٦١٤

مطابع المار الأنمائية

تليفون/فاكس : ٥٤٠٢٥٩٨

هذا الكتاب

Plant Viruses

يحتاج العالم - طبقاً لتقدير الهيئات الدولية - إلى مضاعفة إنتاجه من المحاصيل الزراعية مع بداية القرن الحادى والعشرين وذلك لمواجهة مشكلة نقص الغذاء ... ومن هنا تأتى أهمية هذا الكتاب الذى يتناول بالدراسة الإنتاج الزراعى والنباتات المختلفة ، وما يؤثر عليها من أمراض وآفات وخاصة الفيروسات النباتية والتي قد تحد من الإنتاج الزراعى فى حالة وبائية بعض الفيروسات .

ويأتى هذا الكتاب ليسد نقصاً فى المكتبة العلمية العربية ، ويتكون من اثنى عشر فصلاً يتناول كل منها جانباً مهماً من الموضوع ، وقد زود الكتاب بعدد كبير من الأشكال والجداول والرسوم وذييل بقائمة لبعض المصطلحات الهامة ، بالإضافة إلى قائمة ببعض المراجع العربية والأجنبية للاستزادة .

وأخيراً ... أرجو أن يثرى هذا المرجع الهام المكتبة العربية وأن يعم بالفائدة على الدارسين والمهتمين بعلم فيروسات النبات .

والله ولى التوفيق ...

الكاتب

ISBN : 977-281-135-9

ACADEMIC BOOKSHOP

